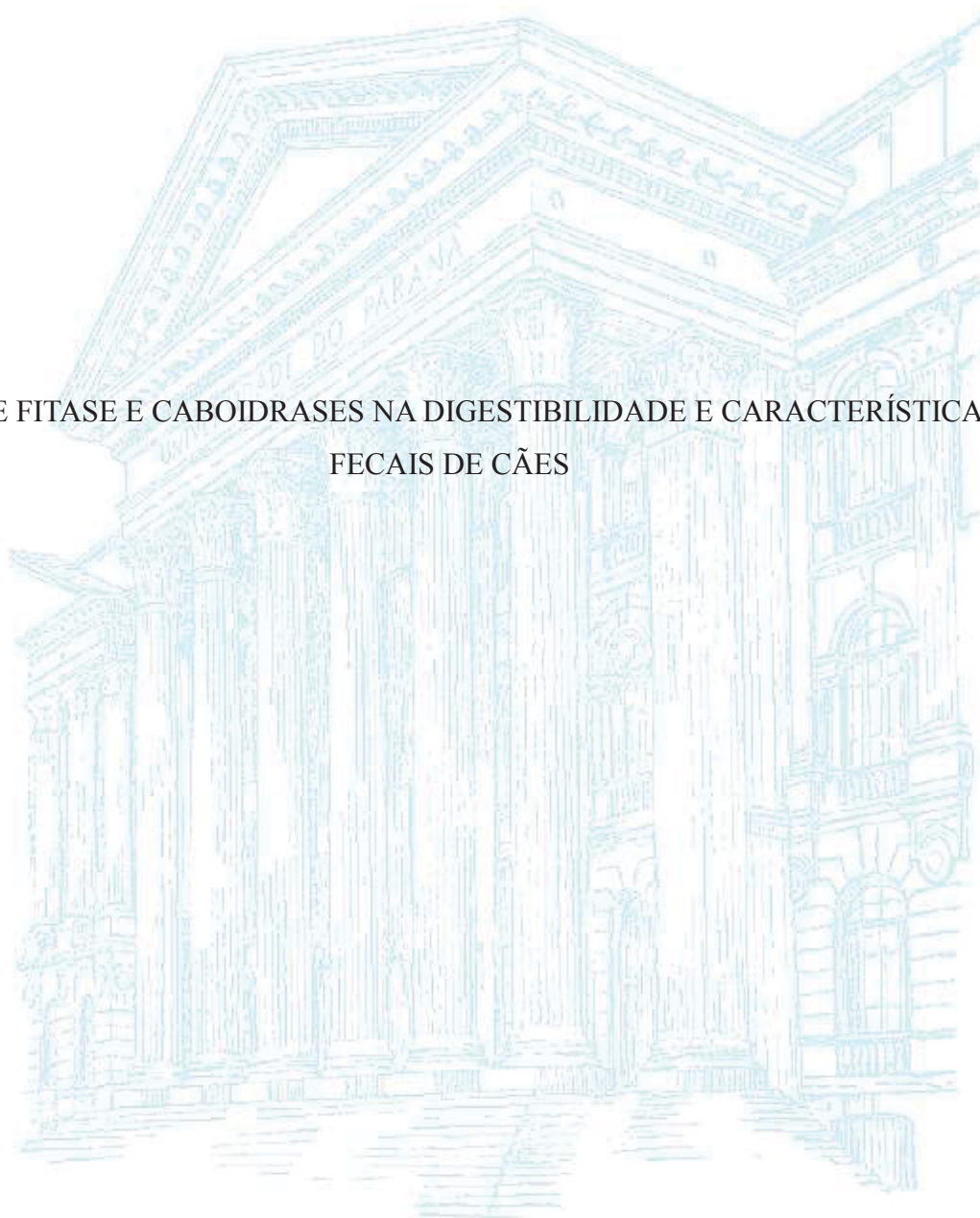


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MELISA FRUCTUOSO MACHADO

USO DE FITASE E CABOIDRASES NA DIGESTIBILIDADE E CARACTERÍSTICAS
FECAIS DE CÃES



CURITIBA

2019

MELISA FRUCTUOSO MACHADO

USO DE FITASE E CABOIDRASES NA DIGESTIBILIDADE E CARACTERÍSTICAS
FECAIS DE CÃES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, ofertado no Setor de Ciências Agrárias na Universidade Federal do Paraná, como um dos requisitos à obtenção de Título de Mestre.

Orientador: Prof. Dra. Simone Gisele de Oliveira

CURITIBA

2019

M149u Machado, Melisa Frutuoso
Uso de fitase e celobidrases na digestibilidade e características
fecais de cães / Melisa Frutuoso Machado. - Curitiba, 2019.
59 p.: il.,

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná. Setor
de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.
Orientadora: Simone Gisele De Oliveira

1. Aditivos alimentares. 2. Fezes - Análise. 3. Valor
nutricional. 4. Dieta. 5. Cães - Nutrição. I. Oliveira, Simone
Gisele De (Orientadora). II. Título. III. Universidade federal do
Paraná.

CDU 636.7.084.42



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ZOOTECNIA -
40001016082P0

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ZOOTECNIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **MELISA FRUTUOSO MACHADO** intitulada: **Uso de fitase e carboidrases na digestibilidade e características fecais de cães**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua aprovação no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 26 de Fevereiro de 2019.


SIMONE GISELE DE OLIVEIRA

Presidente da Banca Examinadora (UFPR)


MARIANA SCHRAIBER
Avaliador Externo (UTP)


ANANDA PORTELLA FÉLIX
Avaliador Interno (UFPR)



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo número 107/2017, referente ao projeto “EFEITO DO USO DE ADITIVOS ENZIMÁTICOS NA DIGESTIBILIDADE E CARACTERÍSTICAS FECAIS DE CÃES”, sob a responsabilidade de **Simone Gisele de Oliveira** – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de Outubro, de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DO SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - BRASIL, com grau 1 de invasividade, em reunião de 04/12/2017.


Vigência do projeto	Fevereiro/2018 até Março/2018
Especie/Linhagem	<i>Canis lupus familiaris</i> (cão)
Número de animais	14
Peso/Idade	11 kg / 1.5 a 2 anos
Sexo	Ambos
Origem	Laboratório de Estudos em Nutrição Canina (LENUCAN) no Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná

CERTIFICATE

We certify that the protocol number 107/2017, regarding the project “EFFECT OF THE USE OF ENZYMATIC ADDITIVES ON DIGESTIBILITY AND FECAL CHARACTERISTICS OF DOGS” under **Simone Gisele de Oliveira** supervision – which includes the production, maintenance and/or utilization of animals from Chordata phylum, Vertebrata subphylum (except Humans), for scientific or teaching purposes – is in accordance with the precepts of Law nº 11.794, of 8 October, 2008, of Decree nº 6.899, of 15 July, 2009, and with the edited rules from Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), and it was approved by the ANIMAL USE ETHICS COMMITTEE OF THE AGRICULTURAL SCIENCES CAMPUS OF THE UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ (Federal University of the State of Paraná, Brazil), with degree 1 of invasiveness, in session of 12/04/2017.

Duration of the project	February/2018 until March/2018
Specie/Line	<i>Canis lupus familiaris</i> (dog)
Number of animals	14
Weight/Age	11 kg / 1.5 to 2 years
Sex	Both
Origin	Laboratory of Canine Nutrition Studies (LENUCAN) in the Agricultural Sciences Sector of the Federal University of Paraná

Curitiba, 4 de dezembro de 2017.


Chayane da Rocha

Às minhas metades mais inteiras: Mamy e Má, a vocês DEDICO.

“É apenas nas misteriosas equações do amor que qualquer lógica ou razão podem ser encontradas.
Eu só estou aqui Hoje por causa de vocês. Vocês São a única razão do meu ser. Vocês são todos
meus motivos.”

- A Beautiful Mind.

AGRADECIMENTOS

A Mamy, Mah e Marcus, por nunca terem me deixado cair ou desanimar, por estarem sempre ao meu lado, por me apoiarem e guiarem ao longo de todas as dificuldades, por serem a força que eu mesma não sabia que tinha. Vocês são o motivo do meu esforço.

Ao meu pai e avós, que mesmo de longe sei que estão me guiando espero que estejam orgulhosos.

Ao Luiz, namorado e amigo, por estar disposto a ajudar sempre, até nos piores momentos, pela parceria, paciência e amor. Por me acompanhar nesta jornada.

A minha orientadora Professora Dra. Simone Gisele de Oliveira, pelos conselhos, paciência e orientações ao longo destes dois anos. Aos professores Alex, Ananda, Chayane e Luciano, por todos os conselhos e apoio técnico.

As professoras da minha banca: Ananda, Mariana e Simone, por tantas contribuições e auxílio ao longo desta etapa.

Ao pessoal do Laboratório de Nutrição Animal, e a Cleusa, Hair e Aldo pela amizade e ensinamentos.

A família do LEPNAN e LENUCAN, por toda amizade e companheirismo, tanto nos momentos de trabalho como nos de comemorações. Vocês nem sabem como me ajudaram. Espero ter retribuído.

Aos amigos de longa data, da infância e que a faculdade me deu, por sempre estarem ao meu lado, pela motivação, parceria e companheirismo, sem vocês o caminho seria muito mais tortuoso.

A empresa Quimtia por todo apoio e por todas as discussões técnicas. Principalmente a Danyelee Salvador, você é um modelo a ser seguido.

A todos que participaram desta etapa, direta ou indiretamente, o meu muito obrigado!

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

Marthin Luther King

RESUMO

A humanização dos animais de companhia ocasionou rápido desenvolvimento no mercado pet, o qual se encontra cada vez mais exigente, criando demandas por ingredientes de maior qualidade e que possam proporcionar maior longevidade aos cães. Para tal, o uso de aditivos enzimáticos vem sendo apontado como uma ferramenta importante otimizando o uso de coprodutos vegetais e melhorando suas características. Com este intuito, objetivou-se avaliar a inclusão de fitase e um complexo enzimático sobre a digestibilidade dos nutrientes e palatabilidade da dieta e características fecais de cães. Foram avaliadas seis diferentes dietas: dieta controle (sem aditivos enzimáticos), dieta com inclusão de fitase (5.000 FTU), dieta com inclusão de fitase *superdosing* (10.000 FTU), dieta com inclusão de fitase *extradosing* (15.000 FTU), dieta com inclusão de carboidrases (50.000 u/g) e dieta com inclusão de um complexo enzimático (fitase 5.000 FTU + carboidrases 50.000 u/g). Foram utilizados 12 cães adultos da raça Beagle, distribuídos em blocos ao acaso, os quais foram alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais. Os resultados de coeficiente de digestibilidade aparente do extrato etéreo (CDAEE) e escore fecal apresentaram diferença estatística para dietas com inclusão de aditivos enzimáticos ($P < 0,05$). Entretanto, o mesmo não foi observado para os CDA da matéria seca (CDAMS), da matéria orgânica (CDAMO), da proteína bruta (CDAPB) e da energia bruta (CDAEB) e para os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e ramificada (AGCR), pH, NH_3 e matéria seca fecal (MSf) ($P > 0,05$). Houve uma tendência de crescimento do ácido acético para as dietas EDF e CB ($P = 1$). A adição de aditivos enzimáticos não demonstra efeito na maioria dos coeficientes de digestibilidade e características fecais. A palatabilidade da dieta não foi afetada pela inclusão dos aditivos enzimáticos.

Palavras-chave: Aditivo. Enzimas exógenas. Fatores antinutricionais. Palatabilidade. Pets.

ABSTRACT

The humanization of companion animals has led to rapid development in the pet market, which is increasingly demanding, creating demands for higher quality ingredients that can provide greater longevity to dogs. To this end, the use of enzymatic additives has been pointed out as an important tool optimizing the use of vegetable co-products and improving their characteristics. The aim of this study was to evaluate the inclusion of phytase and an enzymatic complex on nutrient digestibility and diet palatability and fecal characteristics of dogs. Six different diets were evaluated: control diet (without enzymatic additives), diet with phytase inclusion (5,000 FTU), diet with inclusion of phytase *superdosing* (10,000 FTU), diet with inclusion of phytase *extradosing* (15,000 FTU), diet with inclusion of carbohydrases (50,000 u / g) and diet with an enzyme complex (phytase 5,000 FTU + carbohydrases 50,000 u / g). Twelve adult Beagle dogs were randomly assigned to the experimental diets. The results of apparent digestibility coefficient of the ethereal extract (CDAEE) and fecal score presented statistical difference for diets with inclusion of enzymatic additives ($P < 0.05$). However, the same was not observed for dry matter CDA (CDAMS), organic matter (CDAMO), crude protein (CDAPB) and crude energy (CDAEB) and for short chain fatty acids (AGCC) and branched (AGCR), pH, NH_3 and fecal dry matter (MSf) ($P > 0.05$). There was a tendency of growth of acetic acid for the diets EDF and CB ($P = 1$). The addition of enzymatic additives has no effect on most of the digestibility coefficients and fecal characteristics. The palatability of the diet was not affected by the inclusion of the enzymatic additives

Key words: Additive. Antinutritional factors. Exogenous enzymes. Palatability. Pets.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - CLASSIFICAÇÃO DOS POLISSACARÍDEOS NÃO AMILÁCEOS (PNA) ..	16
FIGURA 2 - DEMONSTRAÇÃO DE UMA MOLÉCULA DE ÁCIDO FÍTICO.....	18
FIGURA 3 - REPRESENTAÇÃO DE UM XILANO HIPOTÉTICO E LOCAIS DE AÇÃO DAS ENZIMAS DO COMPLEXO XILANOLÍTICO	23

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - INGREDIENTES DA DIETA EXPERIMENTAL.	37
TABELA 2 - COMPOSIÇÃO QUÍMICA ANALISADA DAS DIETAS EXPERIMENTAIS.....	37
TABELA 3 - COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE APARENTE (CDA, %) E ENERGIA METABOLIZÁVEL (EM KCAL/KG) DE CÃES ALIMENTADOS COM DIETA CONTROLE E COM INCLUSÃO DE ADITIVOS ENZIMÁTICOS.	42
TABELA 4 - CARACTERÍSTICAS FECAIS DE CÃES ALIMENTADOS COM DIETA CONTROLE E COM INCLUSÃO DE ADITIVOS ENZIMÁTICOS.	42
TABELA 5- PRIMEIRA ESCOLHA E RAZÃO DA INGESTÃO DE CÃES ALIMENTADOS COM DIETA CONTROLE E DIETAS COM INCLUSÃO DE FITASE E CARBOIDRASES.	43

LISTA DE ABREVIATURAS

AGCC - Ácidos graxos de cadeia curta

AGCR - Ácido graxos de cadeia ramificada

CDAMO - Coeficiente de digestibilidade aparente da matéria orgânica

CDAMS - Coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca

CDAPB - Coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta

CDAEE - Coeficiente de digestibilidade aparente do extrato etéreo

CDAEB - Coeficiente de digestibilidade aparente da energia bruta

EM - Energia metabolizável

FTU - Unidade de fitase

IP1 - Mio inositol monofosfato

IP5 - Mio inositol pentafofato

IP6 - Mio inositol hexafofato

MS - Matéria seca

NH₃ – Nitrogênio amoniacal

PNA - Polissacarídeos não amiláceos

SUMÁRIO

CAPÍTULO I: USO DE FITASES E CARBOIDRASES NA DIGESTIBILIDADE E CARACTERÍSTICAS FECAIS DE CÃES.

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1 MERCADO PET.....	15
2.2 FATORES ANTINUTRICIONAIS	15
2.3 ADITIVOS ENZIMÁTICOS	19
2.4 FITASE E CARBOIDRASES	21
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	25
REFERÊNCIAS	26

CAPÍTULO II: USO DE FITASE EM DIFERENTES DOSES COMBINADA OU NÃO COM CARBOIDRASES NA DIGESTIBILIDADE, PALATABILIDADE DA DIETA E CARACTERÍSTICAS FECAIS DE CÃES.

RESUMO	32
ABSTRACT	33
1. INTRODUÇÃO	34
2. MATERIAL E MÉTODOS	36
2.1. EXPERIMENTO 1: ENSAIO DE DIGESTIBILIDADE E CARACTERÍSTICAS DAS FEZES	36
2.1.1. DIETAS	36
2.1.2. ANIMAIS E INSTALAÇÕES.....	38
2.1.3. ENSAIO DE DIGESTIBILIDADE.....	38
2.1.3 CÁLCULOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA	39
2.2.2. ANIMAIS, INSTALAÇÕES E TESTES PALATABILIDADE	40
2.2.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA TESTE PALATABILIDADE	40
3. RESULTADOS	42
4. DISCUSSÃO.....	44
5. CONCLUSÃO.....	47
REFERÊNCIAS	48
LISTA DE REFERÊNCIAS	52

1. INTRODUÇÃO

O aumento da humanização dos animais de companhia por seus tutores vem criando uma demanda por rações de maior qualidade, para não apenas suprir as necessidades nutricionais, mas como também proporcionar longevidade aos cães e gatos.

Neste cenário, o uso de aditivos enzimáticos pode possibilitar maior aproveitamento dos nutrientes da dieta, utilizando coprodutos como matéria prima de qualidade (OLEMPSKA BEER et al., 2006). Ainda, algumas enzimas como as fitases e carboidrases, podem reduzir os fatores antinutricionais e consequentemente, aumentar a digestibilidade dos nutrientes dos ingredientes (DERSJANT-LI et al., 2015).

De acordo com Fischer et al. (2002), a adição destas enzimas tem como principal função complementar a ação das enzimas endógenas, que são produzidas em baixa quantidade pelo organismo ou fornecer de forma exógena as que o animal não é capaz de sintetizar. Desta maneira, proporcionariam um incremento no valor nutritivo das matérias primas, aumentando a digestibilidade dos nutrientes (COWIESON et al., 2006).

Ainda são necessários mais estudos, que comprovem a real eficiência do uso de aditivos na alimentação de cães e que consigam relatar mais dados sobre a existência, ou não, de sinergismo entre os aditivos enzimáticos adicionados a ração. Sendo assim, objetivou-se avaliar a digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes, a energia metabolizável (EM) das dietas, a palatabilidade da dieta e características fecais de cães alimentados com dietas contendo aditivos enzimáticos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 MERCADO PET

Um fator importante que deve ser levado em consideração pela indústria de alimentos para animais de companhia, é o aumento da demanda por rações cada vez mais completas, principalmente devido à humanização dos animais. Desta maneira, o mercado pet vem demonstrando uma acentuada tendência de crescimento (ABINPET, 2015), se tornando um mercado cada vez mais segmentado e específico (STEIFF & BAUER, 2001). Entretanto, o conhecimento sobre a real biodisponibilidade de ingredientes para cães e gatos ainda é escasso (CARCIOFI, 2008), fazendo com que as rações possam estar sub ou superestimando os nutrientes digestíveis da dieta.

Apesar de grande parte do mercado utilizar proteínas de fontes animal, devido ao seu melhor balanço aminoacídico, a padronização da qualidade dos ingredientes é um problema decorrente no setor (BELLAYER, 2001). Em contrapartida, o uso de proteínas vegetais aumentou no Brasil, principalmente pela possibilidade de utilização de coprodutos mais baratos e de boa qualidade, apresentando menor variação bromatológica (LOWE, 1989).

A utilização de fontes vegetais trouxe consigo também algumas limitações de uso. Os carboidratos estruturais presentes nestes ingredientes, também chamados de polissacarídeos não amiláceos (PNA), não podem ser digeridos pelos monogástricos, acarretando em possíveis problemas aos animais tais como: desequilíbrio da microbiota, redução da absorção de nutrientes e da liberação de energia, podendo prejudicar o desempenho dos animais (PENZ JR., 1998). Por serem capazes de aumentar a viscosidade do quimo e interferir na digestibilidade dos nutrientes, os PNA são considerados fatores antinutricionais (TORRES, 2003).

2.2 FATORES ANTINUTRICIONAIS

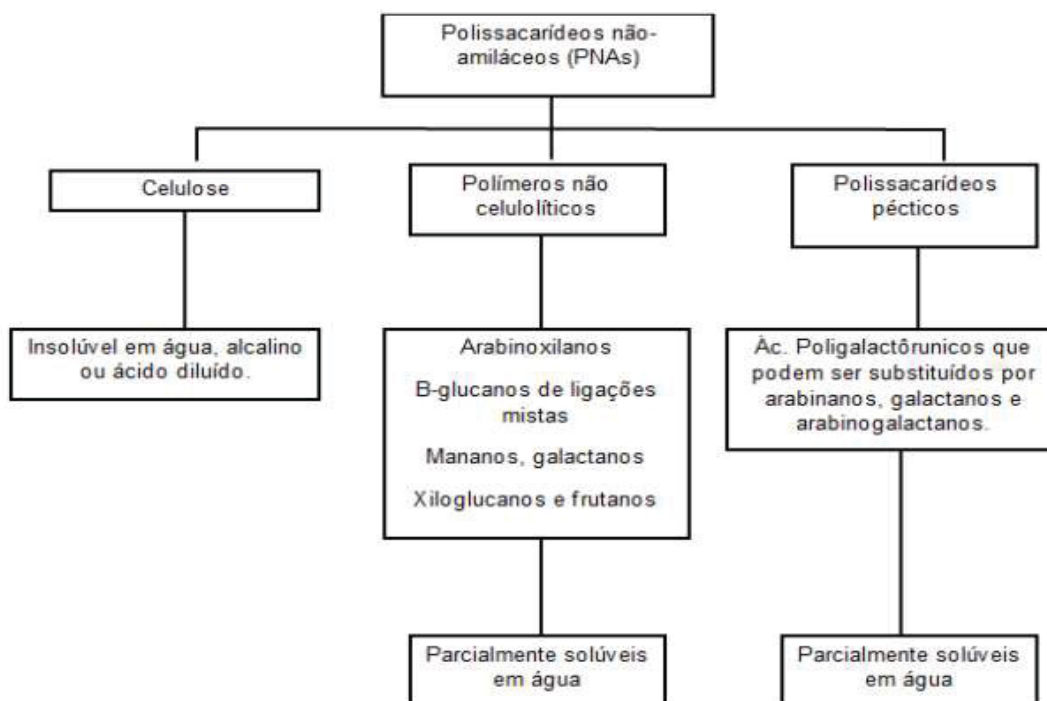
Com o intuito de otimização e biodisponibilidade nutricional, deve ser levado em consideração que grande parte dos ingredientes vegetais utilizados na formulação possuem fatores antinutricionais (DERSJANT-LI et al., 2015), que podem interferir na qualidade do produto e digestibilidade das dietas pela presença de PNA e fitatos (FORTES et al., 2010).

Os PNA são polissacarídeos de açúcares simples, com exceção do amido,

constituintes da parede celular dos vegetais e sua presença pode variar de acordo com as características e condições produtiva dos cultivares (CAPRITA et al., 2010). Suas ligações químicas não são hidrolisadas ao longo do trato gastrointestinal dos monogástricos, visto que estes animais não possuem aparato enzimático capaz de exercer esta função (CONTE et al., 2003).

Segundo Said (1996) os PNA podem ser classificados em três grandes grupos de polissacarídeos: Celulose, polímeros não celulósicos (como os xilanos e β -glucanos) e polissacarídeos pécnicos (ex. glicomananos, arabinanos, xiloglucano), entre outras moléculas como demonstrado na Figura 1.

FIGURA 1 - CLASSIFICAÇÃO DOS POLISSACARÍDEOS NÃO AMILÁCEOS (PNAs)



FONTE: Adaptado de Choct e Kocher (2000).

Outra forma de divisão destes componentes é estabelecida entre dois grupos: fibras fermentáveis e pouco fermentáveis. Segundo Sunvold et al. (1995), o primeiro grupo são responsáveis por transtornos digestivos (devido a produção de gases) e aumento da quantidade de AGCC ocasionando diarreias. Já as do segundo grupo são capazes de reter água e aumentar o volume fecal, diminuindo o tempo de trânsito. Além disto, pode reduzir a

absorção dos nutrientes devido à agressão proporcionada à mucosa intestinal (CASE et al., 1998)

Estes PNA também podem ser classificados de acordo com sua solubilidade com a água ou não, como solúveis ou insolúveis. Apesar dos polissacarídeos insolúveis influenciarem fortemente na taxa de passagem e retenção de água, os solúveis são considerados os maiores responsáveis pelos efeitos antinutricionais dos ingredientes vegetais (LIMA & SILVA, 2001).

Os PNA solúveis (pectinas, gomas e algumas hemiceluloses) têm a capacidade de espessar a camada de água da mucosa devido a sua interação com o glicocálix presentes nas bordas em escova das células intestinais, prejudicando a absorção dos nutrientes pela parede intestinal (MOURINHO, 2006). Segundo Williams et al. (2009) estes PNA ainda são responsáveis pela redução da energia metabolizável da dieta, causado principalmente pela encapsulação dos nutrientes da dieta.

Por serem componentes da parede celular podem ser encontrados de várias formas, impactando de maneiras diferentes o metabolismo do animal, apresentando alta capacidade de ligação com a água e consequente aumento da viscosidade intestinal. Esta ligação e afinidade com a água resulta em sua classificação: solúvel ou insolúvel, afetando a taxa de passagem e viscosidade da dieta (LIMA, VIOLA; 2001). O mesmo impacto negativo dos PNA foi relatado por Penz (1998), ao observar que o aumento da taxa de viscosidade afeta diretamente o desempenho dos animais afetando negativamente a ação das enzimas endógenas e consequentemente, prejudicando a taxa de passagem, transporte e absorção de nutrientes. Outros problemas que também devem ser levados em consideração, devido à presença de PNA, é o aumento da produção fecal e fermentação intestinal (YAMKA et al., 2006).

Estes efeitos antinutricionais dos PNA podem ser expressos, principalmente, por dois mecanismos de ação: encapsulamento do amido e proteína pela parede celular ao longo de vários segmentos das plantas (endosperma, germe, aleurona) e ação dos PNA solúveis influenciando na viscosidade e digestibilidade dos nutrientes (BEDFORD, 2000; CHOCT et al., 1997).

Para Choct et al. (2004) a viscosidade da digesta também desempenha um fator importante pois está relacionado com a saúde intestinal e conservação da microbiota, refletindo sobre as funções fisiológicas do intestino, podendo afetar a conformidade e

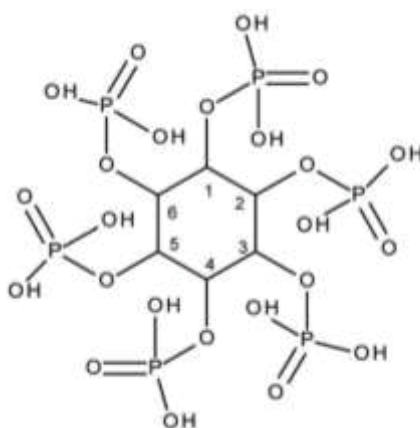
consistência fecal devido a menor eficiência na absorção de água e processo fermentativo.

A presença e quantidade de PNA é muito variável dependendo do ingrediente a ser utilizado. Em se tratando de subprodutos do trigo é possível considerar que a maior parte é composta por arabinoxilanos, seguidos de celulose, lignina (complexada a celulose) e ácido urônico (ARAÚJO et al., 2008). Para as características químicas, o nível e a estrutura dos PNA são critérios importantes na determinação da qualidade da alimentação do trigo e da resposta enzimática (AMERAH, 2015). Além dos PNA, um composto presente em ingredientes de origem vegetal que afeta a digestibilidade, absorção e utilização de nutrientes pelos animais é o fitato.

A presença destes fitatos em sementes e grãos é de grande importância para a nutrição de monogástricos, visto que a maioria do fósforo está presente na forma destes sais de ácido fítico (HUMMER et al., 2015).

O Ácido Fítico (hexafosfato de inositol), substância presente em sementes e grãos, serve como a principal forma de armazenamento de fósforo (P) das plantas. Sua estrutura química é formada por um anel de inositol que contém 6 grupos fosfatos ligados aos prótons (Figura 2). Este ácido pode também estar na sua forma denominada fitato, um sal misto ligado a cátions de minerais, principalmente magnésio, potássio, cálcio ferro e zinco (LIN et al., 2005).

FIGURA 2 - DEMONSTRAÇÃO DE UMA MOLÉCULA DE ÁCIDO FÍTICO



FONTE: Adaptado de Cowieson et al. (2004).

O ácido fítico não é uniformemente distribuído nas sementes, mas sim localizado dentro de estruturas proteicas, podendo variar de acordo com a planta, como por exemplo no trigo, em que o fitato se concentra nas células da aleurona deste ingrediente (JOYCE et al. 2005). Em contrapartida, o milho concentra 90% de seu fitato e a maioria de elementos minerais tais como fósforo, magnésio e cobre no seu germe, ao contrário da maioria dos cereais (LABOURE et al., 1993).

A utilização de grandes quantidades de ingredientes de origem vegetal nas dietas pode aumentar o risco aos animais, pois além da presença dos fatores antinutricionais o ácido fítico presente nos grãos possui a habilidade de se complexar com proteínas, carboidratos e minerais, tornando-os indisponíveis para digestão e absorção, influenciando na digestibilidade de outros ingredientes da dieta (TAYLOR, 2005).

Estes complexos são insolúveis e muito resistentes a hidrólise enzimática, ocasionando perdas endógenas de aminoácidos e afetando sua reabsorção (WOYENGO & NYACHOTI, 2013). Com esta redução da eficiência nutricional, há um aumento no custo de manutenção proteico e energético do animal, reduzindo a energia disponível para o metabolismo (MAENZ, 2001). Com o intuito de reduzir estes malefícios do ácido fítico, o uso de fitases exógenas tem se tornado cada vez mais comuns na produção animal.

2.3 ADITIVOS ENZIMÁTICOS

A utilização de aditivos enzimáticos na alimentação de cães é uma ferramenta na busca por aditivos capazes de melhorar a eficiência dos ingredientes utilizados na formulação das dietas, assim como proporcionar maior longevidade aos animais (CAPPELLI et al., 2016).

Estes aditivos são definidos como substâncias, microrganismos ou produtos, que podem ou não ter valor nutricional, que ao serem adicionados a dieta melhoram suas características, sendo classificados de acordo com seu modo de ação: tecnológicos, sensoriais, nutricionais, zootécnicos ou anticoccidianos (MAPA, 2004). Dentre eles, um grupo que vem ganhando destaque na nutrição de animais de companhia são as enzimas, principais representantes da categoria de aditivos zootécnicos.

Enzimas são proteínas com função catalisadora, capazes de se ligar a determinados substratos para melhorar a ação de enzimas endógenas ou mesmo fornecer enzimas que o

organismo não é capaz de sintetizar (LIMA et al., 2002). Atualmente, a indústria utiliza fontes de fermentação fúngicas ou bacterianas para preparação de enzimas exógenas.

Enzimas digestivas podem ser classificadas como catalizadores biológicos proteicos, atuando sobre determinados substratos específicos que tem função de aumentar a velocidade de determinadas reações (DUTRA JR., 2000/2001), além de serem responsáveis também por reduzirem os efeitos deletérios dos fatores antinutricionais presentes em alguns ingredientes (SHANG, 1996). Desta maneira, sua inclusão na formulação das dietas dos animais poderia ser justificada, associada a utilização de subprodutos com nutrientes mais indisponíveis, a maximizar o potencial energético dos ingredientes e minimizar seus fatores antinutricionais (BRITO et al., 2008).

As enzimas exógenas desempenham diferentes funções, dependendo do tipo de substrato de atuação. Neste contexto, proteases, amilases e lipases atuam principalmente no auxílio da atuação das enzimas endógenas, e as xilanases, glucanases e fitases, que não são produzidas pelos animais monogástricos, são capazes de hidrolisar compostos como fitatos e PNA (LESLIE et al., 2007).

A enzima comercialmente mais utilizada na formulação de dietas para monogástricos é a fitase, utilizada para intensificar a hidrólise do fitato, liberando o fósforo, e por consequência, reduzindo a inclusão de fontes inorgânicas deste ingrediente. Outro grupo que se destaca em uso, são as carboidrases, utilizadas com o intuito de melhorar a absorção dos nutrientes de dietas a base de grãos (trigo, cevada, milho, etc.) (MASEY O'NEILL et al., 2012).

A combinação destes produtos em complexos enzimáticos pode promover melhorias no desempenho dos animais, pois trabalham de forma sinérgica com diferentes focos de ação. Sendo assim, o conjunto de reações possibilita que enzimas diferentes atuem fornecendo novos substratos para as demais e otimizando a reação de catalisação. Entretanto, os mecanismos de sinergismo ainda precisam ser melhor elucidados (SAKOMURA et al., 2004; LELIS et al., 2010), visto que ainda está sendo estudado o impacto da inclusão de diferentes fontes enzimáticas sobre os resultados de ação de uma enzima incluída isoladamente (MASEY O'NEILL et al., 2014).

2.4 FITASE E CARBOIDRASES

A fitase (hexafosfato de mio-inositol fosfohidrolase) é uma enzima já muito conhecida, principalmente na nutrição de animais de produção, tendo como principal função a hidrólise gradual de IP6 a fosfato inorgânico e mio-inositol via IP5 até IP1 (HUMER et al., 2015).

A primeira geração de fitases, de origem fúngica (*Aspergillus niger*), foi desenvolvida em 1991 e sua matriz era incluída nas dietas apenas com a intenção de liberar o fósforo inorgânico e reduzir o impacto ambiental das excreções dos animais (RODRIGUEZ et al., 1999). Entretanto, as novas gerações foram desenvolvidas para utilização de matriz completa, estabelecendo limites de fósforo disponível, cálcio, aminoácidos e energia. Isto ocorre devido ao aumento da eficácia das enzimas, capazes de atuar em diferentes site de hidrólises do ácido fítico (3 ou 6-fitase), em amplas faixas de pH, resistir a ação das proteases endógenas, maior afinidade ao substrato do fitato e dependente de sua origem (fúngica ou bacteriana) (DERSJANT-LI et al., 2015).

A fitase apresenta um modo de ação específico, catalisando a remoção do grupo fosfato do ácido fítico de forma gradativa, começando pelo ácido totalmente fosforilado seguindo em ordem decrescente de preferência. Sendo assim, em condições ideais, o resultado destas reações seria uma molécula de mio-inositol e um fosfato livre, liberando também os nutrientes que antes estavam complexados, tais como aminoácidos e minerais (WYSS et al., 1999; YU et al., 2012).

A escolha da fitase utilizada é muito importante, visto que muitos aspectos podem influenciar na liberação do fósforo orgânico. Sendo assim, o aproveitamento da enzima dependerá da concentração e fonte do fitato na dieta, a espécie e idade do animal, a concentração de minerais da dieta, o tipo de fitase e a sua dose utilizada (ADEOLA & COWIESON, 2011). Outro fator relevante é a afinidade da fitase pelos diferentes substratos disponibilizados na dieta, impactando diretamente na eficiência da enzima (DERSJANT-LI et al., 2015). Os autores ainda relatam que as fitases comerciais se diferem com relação ao valor de pH ótimo para atuação, resistência a proteases endógenas, afinidade ao substrato de fitato, influenciando na sua eficácia. Segundo Yu et al. (2012) a forma mais eficaz de reduzir os fatores antinutricionais do fitato é realizar a sua hidrólise completa o mais rápido possível na parte superior do trato digestório.

Recentemente, estudos começaram a avaliar o efeito da inclusão de altas doses de fitase (*superdosing*) com o intuito de não apenas proporcionar a liberação do fósforo, mas também, por uma ação secundária da redução dos fatores antinutricionais (WALK et al., 2013). A dose de fitase necessária para atingir este tipo de resposta pode variar de acordo com a fonte e o tipo de fitase utilizada (DOS SANTOS et al., 2013; MANOBHAVAN et al., 2016).

É possível que grande parte do benefício do uso de *superdosing* da fitase é alcançado devido a produção de mio-inositol, que é subsequentemente absorvido e transportado para agir em inúmeras funções biológicas e metabólicas do animal (LEE & BEDFORD, 2016).

Além da fitase, outro grupo de enzimas vem sendo utilizado para reduzir o efeito dos fatores antinutricionais dos grãos da dieta, visto que estes compostos não podem ser hidrolisados pelas enzimas dos animais. Sendo assim, torna-se necessária a adição de enzimas exógenas, dentre estas, as que mais se destacam para a degradação dos PNA são as xilanases, celulasas e as glucanases (BRITO et al., 2008), também classificadas como carboidrases.

As carboidrases são as enzimas exógenas responsáveis pela quebra dos carboidratos complexos em açúcares mais simples. Essas enzimas são amplamente utilizadas na nutrição animal para atuar sobre os PNA e amido (BARLETTA et al., 2011).

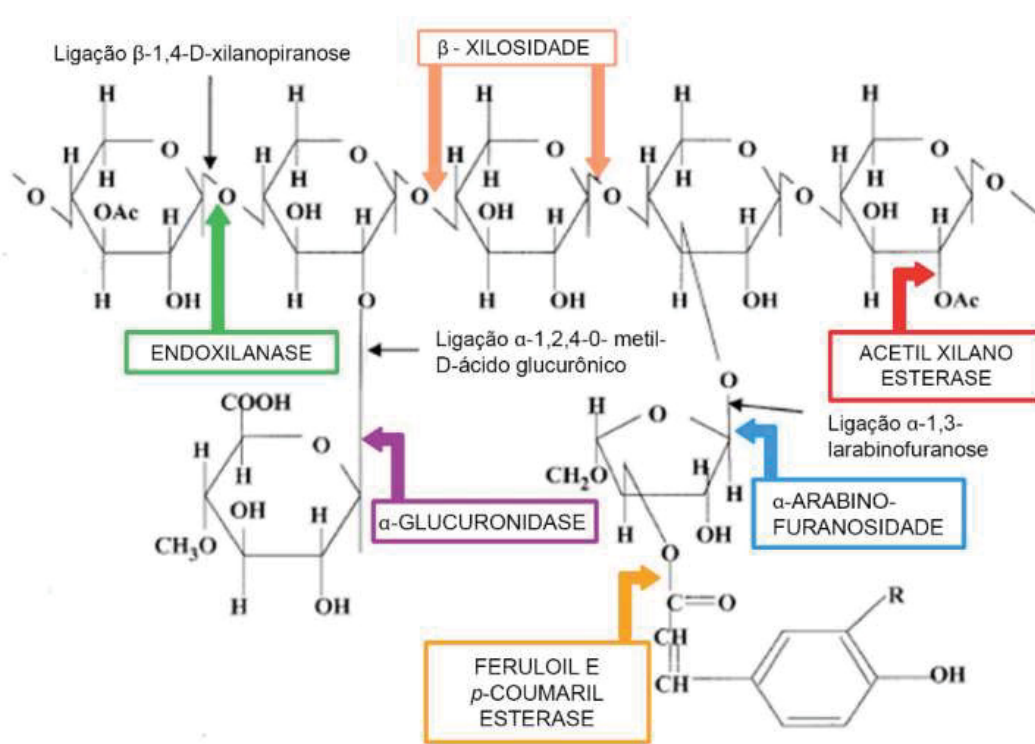
Comercialmente, enzimas microbianas que agem sobre PNA são amplamente utilizadas em formulações com ingredientes de origem vegetal, demonstrando um efeito positivo no desempenho animal, tendo efeito sobre o ganho de peso e eficiência alimentar (CAMPESTRINI et al., 2005).

De modo geral, o tipo de enzima (fúngica ou bacteriana) desempenha papel importante para avaliar qual a melhor a ser utilizada, levando em consideração o processamento e pH a ser atingido (PALOHEIMO et al., 2011). Dentro deste cenário as enzimas de origem fúngicas apresentam maior estabilidade térmica e são capazes de atuar em ampla faixa de pH (de 4 a 7) (SUBRAMANIYAN & PREMA, 2002).

Em se tratando de carboidrases, se destaca o uso de xilanases, enzimas capazes de hidrolisar ligações β 1-4 do xilano, polissacarídeo constituído da parede celular das plantas (COLLINS et al., 2005). As xilanases desempenham papel importante na degradação dos PNA, tornando possível ao animal seu aproveitamento como fonte nutricional e energética e consequentemente melhorando a digestibilidade da dieta (CAMPESTRINI et al., 2005).

As xilanas possuem função estrutural e estão presentes nos ingredientes vegetais (fração hemicelulose). São desta maneira constituídas por vários polímeros de diferentes resíduos de açúcares. Para a sua degradação completa necessita da ação cooperativa de um complexo de enzimas microbianas específicas para realizar a hidrólise dos xilanos em monômeros menores (Figura 3). A enzima principal na despolimerização da xilana é a endo β -1,4 xilanase (COUGHLAN & HAZLEWOOD, 1993).

FIGURA 3 - REPRESENTAÇÃO DE UM XILANO HIPOTÉTICO E LOCAIS DE AÇÃO DAS ENZIMAS DO COMPLEXO XILANOLÍTICO



FONTE: Adaptado de Beg et al. (2001).

Devido à heterogeneidade e complexidade da xilana, a sua hidrólise e posterior conversão em sete unidades de xilose necessita do sistema xilanolítico demonstrado acima. As endoxilanases hidrolisam as ligações glicosídicas do tipo β 1,4, produzindo xilo-oligossacarídeos, os quais são convertidos em xilose pela β -xilosidase (SUBRAMANIYAN & PREMA, 2002).

Outra opção de melhorar a digestibilidade dos ingredientes vegetais é a inclusão de complexos enzimático, sendo amplamente utilizados a associação de carboidrases com fitases. Este complexo enzimático utiliza as xilanases presentes para hidrolisar os

polissacarídeos, fragilizando a camada de PNA que encapsula os nutrientes, possibilitando assim a ação subsequente da fitase mais rapidamente, demonstrando um sinergismo positivo entre elas (FRANCHESCH & GERAERT, 2009). Em contrapartida, Cowieson & Bedford (2009) relatam que a resposta animal à inclusão de carboidrases vai depender da fração indigestível da dieta. Desta maneira, ao se trabalhar com compostos enzimáticos é possível que a ação primária de uma enzima reduza esta fração, prejudicando a ação da enzima subsequente.

Marsmann et al. (1997) descreveram o uso de ingredientes a base de farelo de soja ao utilizar um conjunto de enzimas (proteases e carboidrases), tendo como resultado a melhoria da digestibilidade das proteínas e PNA. Já Mathlouthi et al. (2002) avaliaram o efeito da inclusão de xilanase e β -glucanase na digestibilidade dos nutrientes, desempenho e condições físico químicas do intestino e microbiota cecal de frangos de corte quando alimentados com dietas a base de trigo e cevada, verificando aumento da digestibilidade dos nutrientes e da energia metabolizável aparente da ração. Os autores relatam que esta melhora da absorção do intestino delgado provavelmente se deve pelo aumento das superfícies dos vilos e da concentração de ácidos biliares conjugados.

Ravindran et al. (1999) ao trabalharem com xilanase em aves, observaram um efeito positivo devido a inclusão da enzima, principalmente por dois fatores: redução da viscosidade da digesta, resultando na quebra dos arabinoxalanos em componentes de menor peso molecular favorecendo o contato dos nutrientes com as enzimas endógenas e pela liberação dos nutrientes encapsulados nas estruturas da parede celular. Em um estudo realizado com cães Silva et al. (2016), testaram diferentes inclusões de xilanases sobre o ingrediente resíduo seco de destilaria com solúveis (DDGS), tendo como resultado que inclusões de até 18% de DDGS podem ser utilizadas, desde que, suplementadas com xilanase, melhorando assim a digestibilidade da proteína das dietas.

Twomey et al. (2003a) avaliaram a inclusão de carboidrases em dietas para cães contendo sorgo e milho e não observaram nenhum efeito da adição da mesma. Entretanto, os mesmos pesquisadores posteriormente avaliaram a inclusão de amilase, beta-glucanase e xylanase em dietas para cães contendo níveis crescentes de PNA solúveis e relataram o aumento da digestibilidade da gordura, matéria seca e energia, aumentando a consistência das fezes dos animais (TWONEY et al., 2003b).

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de enzimas exógenas vem se tornando um importante aliado na busca pela “nutrição” ótima de cães. O destaque das fitases e carboidrases se dá pela ação sobre alguns dos ingredientes vegetais utilizados na formulação das rações, fornecendo substratos para a ação das enzimas e consequentemente auxiliando na redução dos fatores antinutricionais das dietas. Os mecanismos de ação ainda precisam ser estabelecidos para cães, visto que estes aditivos sofrem influência de diversos fatores como substrato, pH, temperatura e metabolismo.

REFERÊNCIAS

- ABINPET. (2015). **Dados referentes ao mercado pet food em (2013)**. Disponível “<<http://abinpet.org.br/site/mercado/>>”. Acesso: 10/04/2017.
- ADEOLA, O and COWIESON A.J. Board-invited review: opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. **Journal of Animal Science**. V.89, p. 3189–3218, 2011.
- AMERAH, A.M. Interactions between wheat characteristics and feed enzyme supplementation in broiler diets. **Animal Feed Science and Technology**. V. 199, p. 1–9, 2015.
- ARAÚJO, M. D.; SILVA, J. H. V.; ARAÚJO, A. J.; TEIXEIRA, M. N. E.; JORDÃO FILHO, J.; RIBEIRO, G. M. Farelo de trigo na alimentação de poedeiras semipesadas na fase de recria. **Revista Brasileira de Zootecnia**. V. 37, n. 1, p. 67-72. 2008.
- BARLETTA, A. **Introduction: Current Market and Expected Developments**. In: BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. 2.ed. Cap.1, p.1-11, 2011.
- BEDFORD, M.R. Exogenous enzymes in monogastric nutrition - their current value and future benefits. **Animal Feed Science and Technology**. V.86, p.1-13, 2000.
- BEG, Q.; KAPOOR, M.; MAHAJAN, L.; HOONDAL, G. S. Microbial xylanases and their industrial applications: a review. **Applied Microbiology biotechnology**. V.56, p. 326-338, 2001.
- BELLAVER, C. Ingredientes de origem animal destinados à fabricação de rações. In: **SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL**. Campinas. Anais. Campinas, SP:CBNA, 2001. p.167-190, 2001.
- BRITO, M. S.; DE OLIVEIRA, C. F. S.; SILVA, T. R. G.; LIMA, R. B., MORAIS, S. N.; SILVA, J. H. V. Polissacarídeos não amiláceos na nutrição de monogástricos – revisão. **Acta Veterinária Brasília**. v.2, n.4, p.111-117, 2008.
- CAMPESTRINI, E.; SILVA, V.T. M.; APPELT, M.D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.2, n.6, p.254-267, 2005.
- CAPRITA, R.; CAPRITA, A.; JULEAN, C. biochemical aspects of non-starch polysaccharides. **Animal Science and biotechnology**, Romenia. V. 43, n.1, p. 368-374, 2010.
- CAPPELLI, S.; MANICA, E.; HASHIMOTO, J.H. Importância dos aditivos na alimentação de cães e gatos: Revisão. PUBVET – **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**. V.10, n.3, p.212-223, 2016.
- CARCIOFI, A.C. Fontes de Proteínas e carboidratos para cães e gatos. **Revista Brasileira de**

Zootecnia. V.37, p. 28-41, suplemento especial, 2008.

CASE, L.P; CAREY, D.P; HIRAKAWA, D.A. **Nutrição canina e felina -Manual para profissionais**. 2ª edição. Lisboa: Harcourt Brace, 1998. 424 p

CHOCT, M. Feed Non-Starch Polysaccharides: Chemical structures and nutritional significance. **Feed Milling International**. June issue, p. 13-26, 1997.

CHOCT, M., KOCHER, A., WATERS, D.L.E., PETTERSSON, D., ROSS, G. A comparison of three xylanases on the nutritive value of two wheats for broiler chickens. **British Journal of Nutrition**. V.92, p. 53- 61, 2004.

COLLINS, T.; GERDAY, C.; FELLER, G. Xylanases, xylanase families and extremophilicxylanases. **FEMS microbiology reviews**. V.29, n.1, p.3-23, 2005.

CONTE, A.J., et al. Efeito da Fitase e Xilanase sobre o Desempenho e as características Ósseas de Frangos de Corte Alimentados com Dietas Contendo Farelo de Arroz. In: **Revista Brasileira de Zootecnia**. V.32, n.5, p.1147-1156, 2003.

COUGHLAN, M.P. e HAZLEWOOD, G.P. B-1-4 Dxyln-degrading enzyme systems: biochemistry molecular biology and application. **Applied Biochemistry and Biotechnology Journal**. V.17, pg. 259-289, 1993.

COWIESON, A. J., ACAMOVIC, T., BEDFORD, M. R. The effects of phytase and phytic acid on the loss of endogenous amino acids and minerals from broiler chickens. **British Poultry Science**. V. 45, p. 101-108, 2004.

COWIESON, A.J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M.R. Phytic acid and phytase: implications for protein utilization by poultry. **Poultry Science**. v.85, p.878-885, 2006.

COWIESON A. J, BEDFORD M. R. The effect of phytase and carbohydrase on ileal amino acid digestibility in monogastric diets: complimentary mode of action? **World Poultry Science Journal**. V. 65 (4), p. 609-624, 2009.

DERSJANT-LI, Y.; AWATI, A.; SCHULZE, H.; PARTRIDGE, G. Phytase in non-ruminant animal nutrition: a critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factor. **Journal of the Science of food and agriculture**. V. 95, p. 878-896, 2015.

DOS SANTOS T. T., SRINONGKOTE S., BEDFORD M. R., WALK C. L. Effects of high phytase inclusion rates on performance of broilers fed diets not severely limited in available phosphorus. **Asian Australasian Journal Animal Science**. V. 26 (2), p. :227-232, 2013.

DUTRA JR, W.M., NETO J.B.R., MOREIRA J.C.S., BIASUS I.O. & GIER M. Substituição parcial do milho por resíduo da pré-limpeza do arroz com a adição de enzimas em rações para frangos de corte. ii - características de carcaça. **Revista da Faculdade de Medicina veterinária e Zootecnia - Uruguaiana**. V. 7/8, p. 170-178, 2000/2001.

FISCHER, G.; MAIER, J.C.; RUTZ, F.; BERMUDEZ, V.L. Desempenho de Frangos de Corte

Alimentados com Dietas à Base de Milho e Farelo de Soja, com ou sem Adição de Enzimas. **Revista Brasileira de Zootecnia**. V.31, n.1, p.402-410, 2002.

FRANCESCH, M.; GERAERT, P. A. Enzyme complex containing carbohydrases and phytase improves growth performance and bone mineralization of broilers fed reduced nutrient corn-soybean-based diets. **Poultry Science**. V.88, p.1915–1924, 2009.

FORTES, C. M. L. S.; CARCIOFI, A. C.; SAKOMURA, N. K.; KAWAUCHI, I. M.; ET al. Digestibility and metabolizable energy of some carbohydrate sources for dogs. **Animal Feed Science and Technology**. V.156, p. 121–125, 2010.

HUMER, E., SCHWARZ, C. E SCHEDLE, K. Phytate in pig and poultry nutrition. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. V. 99, pg. 605–625, 2015.

JOYCE, C., DENEAU, A., PETERSON, K., OCKENDEN, I., RABOY, V. AND LOTT, J. N. A. The concentrations and distributions of phytic acid phosphorus and other mineral nutrients in wildtype and low phytic acid Js-12-LPA wheat (*Triticum aestivum*) grain parts. **Canadian Journal of Botany**. V.83, p.1599-1607, 2005.

LABOURE, A. M.; GAGNON, J.; LESCURE, A. M. Purification and characterization of a phytase (myo-inositolhexakisphosphate phosphohydrolase) accumulated in maize (*Zea mays*) seedlings during germination. **Biochemical Journal**. V. 295, p. 413–419, 1993.

LEE S. A., BEDFORD M. R. Inositol e an effective growth promotor? **World Poultry Science Journal**. V. 72 (4), p.743-760, 2016.

LELIS, G.R.; ALBINO, L.F.T.; SILVA, C.R.; ROSTAGNO, H.S.; GOMES, P.C. BORSATTO, C.G. Suplementação dietética de fitase sobre metabolismo de nutrientes de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**. V.39, n.8, p.1768-1773, 2010.

LESLIE, M.A., MORAN, E. T., BEDFORD, R. M. The effect of phytase and glucanase on the ileal digestible energy of corn and soybean meal fed to broilers. **Poultry Science**. V. 86, p.2350-2357, 2007.

LIMA G.J.M.M. & VIOLA E.S. Ingredientes energéticos: trigo e tritcale na alimentação animal. In: **Simpósio Sobre Ingredientes Na Alimentação Animal**. Campinas CBNA p.33-61, 2001.

LIMA, A.C.F., MACARI, M., PIZAURO JUNIOR, JM, MALHEIROS, E.B. Pancreatic enzymatic activity of broiler fed with diets containing enzyme or probiotic. **Brazilian Journal of Poultry Science**. V.4, n.3, p.187-193, 2002.

LIN, L., OCKENDEN, I., LOTT, J. N. A. The concentrations and distributions of phytic acid phosphorus and other mineral nutrients in wild-type and low phytic acid 1-1 (lpa1-1) corn (*Zea mays L.*) grain parts. **Canadian Journal of Botany**. V.83, p.131-141, 2005.

LOWE, J. A. Effective use of new and novel concepts in pet food design. In: Proc. Alltech's Fifth Annual Symposium. **Biotechnology in the Feed Industry**. Alltech's Technical

Publications, Nicholasville, KY. P209- 221, 1989.

MAENZ DD, **Enzymatic and other characteristics of phytases as they relate to their use in animal feeds**, in *Enzymes in Farm Animal Nutrition*, ed. by Bedford MR and Partridge GG. CABI, Wallingford, UK, pp. 61–84 2001.

MANOBHAVAN M., ELANGO VAN A. V., SRIDHAR M., SHET D., AJITH S., PAL D. T., et al. Effect of super dosing of phytase on growth performance, ileal digestibility and bone characteristics in broilers fed corn-soya-based diets. **Journal of animal physiology and animal nutrition**. V. 100 (1), p. 1-7, 2016.

MAPA – **MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. REGULAMENTO TÉCNICO SOBRE ADITIVOS PARA PRODUTOS DESTINADOS À ALIMENTAÇÃO ANIMAL**. Instrução normativa nº13/2004, 2004.

MARSMANN G.J., GRUPPEN H., VAN DER POEL, F.A. et al. 1997. The effect of thermal processing and enzyme treatments of soybean meal on growth performance, ileal nutrient digestibility, and chyme characteristics in broiler chicks. **Poultry Science**. V. 76, p. 864-872.

MASEY O'NEILL, H.V., LIU N., WANG J. P., DIALLO A., HILL S. Effect of xylanase on performance and apparent metabolizable energy in starter broilers fed diets containing one maize variety harvested in different regions of China. **Asian Australian Journal Animal Science**. V. 25, p.515-523, 2012.

MASEY O'NEILL HV, SMITH JA, BEDFORD MR. Multicarbohydrase enzymes for non-ruminants. **Asian Australian Journal Animal Science**. V. 27 (2), p. 290-301, 2014.

MATHLOUTHI N; MALLET S. S.; SAULINIER L; Effects of xylanase and beta-glucose addition on performance, nutrient digestibility and physico-chemical conditions in the small intestine contents and caecal microflora of broiler chickens fed a wheat and barley-based diet. **Animal Research**. V.51, p. 395-406. 2002.

MOURINHO, F.L. **Avaliação nutricional da casca de soja com ou sem adição de complexo enzimático para leitões na fase de creche**. 2006. 42f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2006.

OLEMPSKA-BEER, Z. S.; MERKER, R. I.; DITTO, M. D.; DINOVI, M. J. Food-processing enzymes from recombinant microorganisms - a review. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**. V. 45, p. 144–158, 2006.

PALOHEIMO, M., PIIRONEN, J., and VEHEMAANPERA, J. **Xylanases and celulasas as feed additives**. In: BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. 2.ed. Cap.2, p.12-54. 2011.

PARKKONEN T., TERVILA-WILO A., HOPEAKOSKI-NURMINEN M., MORGAN A., POUTANEN K., AUTIO K., Changes in wheat microstructure following in vitro digestion. **Acta Agriculture Scandinavica**. Sect B V.47, p. 43–47, 1997.

PENZ JÚNIOR A.M. Enzimas em rações para aves e suínos. In: **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia- Botucatu - SP**. V.35, x, p.65-178, 1998.

SUBRAMANIYAN, S. & PREMA, P. Biotechnology of Microbial Xylanases: Enzymology, Molecular Biology, and Application. **Critical Reviews in Biotechnology**. V. 22 (1), p. 33-64, 2002.

RAVINDRAN V., CABAUGH S., RAVINDRAN G., BRYDEN W.L. Influence of microbial phytase on apparent ileal amino acid digestibility of feedstuffs for broilers. **Poultry Science**. V. 78, p. 699–706, 1999.

RODRIGUEZ E., PORRES J. M., HAN Y., LEI X. G. Different sensitivity of recombinant *Aspergillus niger* phytase (r-PhyA) and *Escherichia coli* pH 2.5 acid phosphatase (r-AppA) to trypsin and pepsin in vitro. **Archives of Biochemistry and Biophysics**. V. 365 (2), 262–267, 1999.

SAID, N. W. Extrusion of alternative feed ingredients: An environmental and nutritional solution. **Journal of applied poultry research**. V. 5, p. 395-407, 1996.

SAKOMURA, N. K., BARBOSA, N. A. A., DOURADO, L. R. B. **Enzimas na Nutrição de Monogástricos**. In: SAKOMURA, N. K., SILVA, J. H. V., COSTA, F. G. P., FERNANDES, J. B. K., HAUSCHILD, L. Nutrição de Não Ruminantes (1ªEd) 2014, 677p, 2014.

SHANG M.J. O uso de enzimas VEGPRO em dietas para frangos em crescimento. In: **6ª Ronda Latinoamericana de Biotecnologia da Alltech, Caribe, Anais**. p. 71-77, 1996.

SILVA, J. R., DOMINGUES, L. P., SABCHUK, T. T., MALINOSKI, F., FELIX, A. P., OLIVEIRA, S. G. Efeito da aplicação da enzima xilanase em dietas contendo resíduo seco de destilaria contendo solúveis (DDGS) na alimentação de cães. **XV Congresso CBNA PET**, Expo D. Pedro - Campinas, SP. 2016.

STEIFF, E.L.; BAUER, J.E. Nutritional adequacy of diets formulated for companion animals. **Journal of the American Veterinary Medical Association Schaumburg**. V. 219, n.5, p. 601-604, 2001.

SUNVOLD, G.D., FAHEY, G.C., MERCHEN, N.R., et al. Dietary fiber for dogs. IV. In vitro fermentation of selected fiber sources by dog fecal inoculum and In Vivo digestion and metabolism of fiber-supplemented diets. **Journal of Animal Science**, v.73, n.6, p.1099-1109, 1995.

TAYLOR JRN. Non-starch polysaccharides, protein and starch: from function and feed e highlights on sorghum. **Proceedings, Australian Poultry Science Symposium**. V.17, p. 9-16, 2005.

TORRES, D. M. **Valor nutricional de farelos de arroz suplementados com fitase, determinado por diferentes metodologias com aves**. 172 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras – UFLA, Lavras. 2003.

TWOMEY, L.N.; PLUSKE, J.R.; ROWE, J.B.; CHOCT, M.; BROWN, W.; McCONNELL, M.F.; PETHICK, D.W. The replacement value of sorghum and maize with or without supplemental enzymes for rice in extruded dog foods. **Animal Feed Science and Technology**. V.108, p.61-69, 2003a.

TWOMEY, L.N.; PLUSKE, J.R.; ROWE, J.B.; CHOCT, M.; BROWN, W.; McCONNELL, M.F.; PETHICK, D.W. The effects of increasing levels of soluble non-starch polysaccharides and inclusion of feed enzymes in dog diets on fecal quality and digestibility. **Animal Feed Science and Technology**. V.108, p.71-82, 2003b.

YAMKA, R. M.; HARMON, D. L.; SCHOENHERR, W. D.; et al. In vivo measurement of flatulence and nutrient digestibility in dogs fed poultry by-product meal, conventional soybean meal, and low-oligosaccharide low-phytate soybean meal. **American Journal of Veterinary Research**. V. 67, p. 88–94, 2006.

YU S., COWIESON A., GILBERT C., PLUMSTEAD P., DALSGAARD S. Interactions of phytate and myo-inositol phosphate esters (IP1-5) including IP5 isomers with dietary protein and iron and inhibition of pepsin. **Journal of Animal Science**. V. 90, p. 1824–1832, 2012.

WALK C. L., BEDFORD M. R., SANTOS T. T., PAIVA D., BRADLEY J. R., WLADECKI H., et al. Extra phosphoric effects of superdoses of a novel microbial phytase. **Poultry Science**. V. 92, p. 719-25, 2013.

WILLIAMS, P.E.V.; GERAERT, P.A.; UZU, G.; ANNISON, G. **Factors affecting non-starch polysaccharide digestibility in poultry**. CIHEAM- Options méditerranéennes [online], p.125-134. Disponível em <http://ressources.ciheam.org/om/pdf/c26/97605979.pdf>. Acesso em: 07 Jan 2019.

WOYENGO TA AND NYACHOTI CM, Review: Anti-nutritional effects of phytic acid in diets for pigs and poultry: current knowledge and directions for future research. **Canadian Journal of Animal Science**. V. 93, pg. 9–21, 2013.

WYSS M, BRUGGER R, KRONENBERGER A, RÉMY R, FIMBEL R, OESTERHELT G ET AL., Biochemical characterization of fungal phytases (myo-inositol hexakisphosphate phosphohydrolase): catalytic properties. **Applied and Environmental Microbiology**. V. 65, p.367–373, 1999.

USO DE FITASE EM DIFERENTES DOSES COMBINADA OU NÃO COM CARBOIDRASES NA DIGESTIBILIDADE, PALATABILIDADE DA DIETA E CARACTERÍSTICAS FECAIS DE CÃES.

RESUMO

O desenvolvimento do mercado pet, cada vez mais exigente, gerou demanda por novas tecnologias, possibilitando o melhor aproveitamento e otimização dos ingredientes da ração. Neste cenário, o uso de aditivos enzimáticos pode se tornar uma importante ferramenta nutricional. Com este intuito, objetivou-se avaliar a inclusão de um complexo enzimático sobre a digestibilidade dos nutrientes, palatabilidade e as características fecais de cães. Foram avaliadas seis diferentes dietas: dieta controle (sem aditivos enzimáticos), dieta com inclusão de fitase (5.000 FTU), dieta com inclusão de fitase *superdosing* (10.000 FTU), dieta com inclusão de fitase *extradosing* (15.000 FTU), dieta com inclusão de carboidrases (50.000 u/g) e dieta com inclusão de um complexo enzimático (fitase 5.000 FTU + carboidrases 50.000 u/g). Foram utilizados 12 cães adultos da raça Beagle, distribuídos em blocos inteiramente ao acaso, os quais foram alimentados durante 30 dias com as dietas experimentais. Os resultados de coeficiente de digestibilidade do extrato etéreo (CDAEE) e escore fecal apresentaram diferença estatística para dietas com inclusão de aditivos enzimáticos ($P < 0,05$). Entretanto, o mesmo não foi observado para os coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDAMS), da matéria orgânica (CDAMO), da proteína bruta (CDAPB) e da energia bruta (CDAEB) e características fecais de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e ramificada (AGCR), pH, NH_3 e matéria seca fecal (MSf) ($P > 0,05$). Houve uma tendência de crescimento do ácido acético para as dietas EDF e CB ($P = 1$). A adição de aditivos enzimáticos não demonstra efeito na maioria dos coeficientes de digestibilidade e características fecais. A palatabilidade da dieta não foi afetada pela inclusão dos aditivos enzimáticos.

Palavras-chave: Aditivo, enzimas exógenas, fatores antinutricionais, palatabilidade, pets.

USE OF PHYTASE IN DIFFERENT DOSES COMBINED OR NOT WITH CARBOHYDRATES IN DIGESTIBILITY, PALATABILITY OF DIET AND FACIAL CHARACTERISTICS OF DOGS.

ABSTRACT

The development of the increasingly demanding pet market has generated demand for new technologies, enabling better use and optimization of feed ingredients. In this scenario, the use of enzymatic additives can become an important nutritional tool. The aim of this study was to evaluate the inclusion of an enzymatic complex on nutrient digestibility, palatability and fecal characteristics of dogs. Six different diets were evaluated: control diet (without enzymatic additives), diet with phytase inclusion (5,000 FTU), diet with inclusion of phytase *superdosing* (10,000 FTU), diet with inclusion of phytase *extradosing* (15,000 FTU), diet with inclusion of carbohydrases (50,000 u / g) and diet with an enzyme complex (phytase 5,000 FTU + carbohydrases 50,000 u / g). Twelve adult Beagle dogs were used, distributed in blocks at random, which were fed for 30 days with the experimental diets. The results of the digestibility coefficient of the ethereal extract (CDAEE) and fecal score presented statistical difference for diets with inclusion of enzymatic additives ($P < 0.05$). However, the same was not observed for dry matter digestibility (CDAMS), organic matter (CDAMO), crude protein (CDAPB) and gross energy (CDAEB) coefficients and fecal characteristics of short chain fatty acids (AGCC) and branched (AGCR), pH, NH_3 and fecal dry matter (DMF) ($P > 0.05$). There was a tendency of growth of acetic acid for the diets EDF and CB ($P = 1$). The addition of enzymatic additives has no effect on most of the digestibility coefficients and fecal characteristics. The palatability of the diet was not affected by the inclusion of the enzymatic additives.

Key words: Additive, antinutritional factors, exogenous enzymes, palatability, pets.

1. INTRODUÇÃO

Enzimas exógenas vêm sendo utilizadas para reduzir os efeitos antinutricionais presentes nos ingredientes, melhorando também a digestibilidade de proteína e energia (COWIESON et al., 2006; ANAYA et al., 2008, ADEOLA e COWIESON, 2011), bem como demonstrando benefícios na modulação da microbiota e auxílio nos processos fermentativos dos animais (YAMKA et al., 2006). O valor nutricional a ser considerado na inclusão destes aditivos pode ser variável, dependendo da espécie e idade do animal, sendo também influenciado pela composição da dieta (BEDFORD & COWIESON, 2012). Desta forma, é possível otimizar e adequar as dietas para inclusão de coprodutos e ingredientes diversos sem prejudicar a absorção dos nutrientes pelos animais (OLEMPSKA BEER et al., 2006).

Deve ser levado em consideração que grande parte dos ingredientes vegetais utilizados nas formulações possuem fatores antinutricionais (DERSJANT-LI et al., 2015), principalmente pela presença dos polissacarídeos não amiláceos (PNA) e fitatos presentes nos grãos (FORTES et al., 2010).

Vale a pena ressaltar que os cereais representam uma importante fonte de energia utilizada na nutrição animal, entretanto, eles também possuem fatores antinutricionais como os PNA, com teores variando de 8,3 a 9,8% (SLOMINSKI et al., 2000). As cadeias de arabinoxilano são os principais PNA encontrados no trigo, podendo atingir até 7,3% na matéria seca (BACH KNUDSEN, 2014).

A inclusão de fitase nas formulações pode auxiliar na redução dos efeitos antinutricionais do fitato, melhorando a eficiência da utilização de compostos orgânicos em ingredientes à base de plantas. O uso de fitase *superdosing* já vem sendo estudado em aves e suínos, demonstrando um efeito benéfico não apenas no desempenho zootécnico do animal como também na redução dos fatores antinutricionais, na absorção de nutrientes e na formação de inositol no intestino (COWIESON et al., 2011; DOS SANTOS et al., 2013; WALK et al., 2013).

A suplementação com carboidrases atua na degradação das células dos polissacarídeos estruturais (solúveis e insolúveis), possibilitando a ação de enzimas endógenas nos nutrientes presos dentro da célula. Outro benefício, é a liberação de oligossacarídeos ou monossacarídeos, que podem ser facilmente fermentados pela microbiota intestinal, formando ácidos graxos de cadeia curta, que são absorvidos e poderão ser utilizados como energia pelos animais (COWIESON & ADEOLA, 2005; MASEY O'NEILL et al., 2012).

A combinação de mais de um tipo de enzimas, chamados de complexos enzimáticos, podem promover melhorias no aproveitamento das dietas pelos animais, possibilitando que enzimas diferentes atuem fornecendo novos substratos para as enzimas endógenas, otimizando suas reações metabólicas (SAKOMURA et al., 2004).

Como exemplo destes complexos a associação de carboidrases, capazes de hidrolisar a camada de PNA que encapsula os nutrientes, com fitases, possibilitando assim uma ação subsequente da fitase mais rapidamente, demonstra uma ação sinérgica entre estes aditivos enzimáticos (FRANCHESCH & GERAERT, 2009). Além disto, a escolha dos ingredientes pode ter influência sobre a potencialização destes complexos, sendo necessário levar em consideração a concentração e tipo de substrato, balanço nutricional e outros fatores que podem influenciar no sinergismo das enzimas proporcionando efeitos positivos (SCHRAMM et al., 2016).

Ainda são necessários mais estudos que comprovem a real eficiência da inclusão de enzimas, ou de seus complexos, na alimentação de cães. Sendo assim, objetivou-se avaliar a digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes, a energia metabolizável (EM) das dietas, a palatabilidade da dieta e características fecais de cães de cães alimentados com dietas contendo aditivos enzimáticos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi aprovado pela Comissão de ética no uso de animais do setor de Ciências agrárias (CEUA) da Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR, Brasil, Nº 107/2017.

2.1. Experimento 1: Ensaio de Digestibilidade e características das fezes

2.1.1. Dietas

O complexo enzimático de carboidrases (Precizyon X50[®], Quimtia S.A., Índia) consiste em uma mistura de enzimas, sendo elas: amilase (120.000 u/g), xilanase (20.000 UI/g), beta glucanase (7.500 UI/g), protease (1.400 u/g) e, beta mananase (250 UI/g), produto da fermentação de *Trichoderma longibrachiatum* (MTCC 2052, IUB No. 3.2.1.8) com dose recomendada de 50 g/kg de ração.

A fitase utilizada (Precizyon Fit[®], Quimtia S.A., Índia) consiste em uma 6-fitase termoestável em pó (IUB No. 3.1.3.26), proveniente da fermentação bacteriana da *Escherichia coli*. Segundo o fabricante, possui atividade mínima 5.000 FTU/g com dose recomendada de 100 g/kg de ração.

Foi avaliada uma dieta sem adição de aditivos enzimáticos, e a mesma dieta com inclusão de fitase, em diferentes doses, ou carboidrases.

As dietas foram formuladas de acordo com as exigências nutricionais do FEDIAF (2016) para cães adultos. As dietas analisadas foram: DC: dieta controle (sem adição de aditivos enzimáticos); FT: dieta controle com inclusão de fitase (5.000 FTU/g); SDF: dieta controle com inclusão de fitase *superdosing* (10.000 FTU/g); EDF: dieta controle com inclusão de fitase *extradosing* (15.000 FTU/g); CB: dieta controle com inclusão de carboidrases (50.000 U/g) e CE: dieta controle com inclusão de um complexo enzimático de fitase (5.000 FTU/g) e carboidrase (50.000 U/g). A composição química da dieta controle está representada na Tabela 1 abaixo:

TABELA 1 - INGREDIENTES DA DIETA EXPERIMENTAL.

Ingredientes (g/kg)	Ração
Milho	386
Farelo de trigo	100
Farelo de soja	376
Protenose	50
Cloreto de sódio	4
Óleo de soja	18
Propionato de Cálcio	1
Calcário calcítico	15
Fosfato bicálcico	15
Suplemento mineral-vitamínico ¹	5.0

¹Enriquecimento.kg de alimento-1: VITAMINA A (mín) 2.475.840 UI/kg VITAMINA D3 (mín) 300.000 UI/kg VITAMINA E (mín) 10.044 UI/kg VITAMINA K3 (mín) 405 mg/kg VITAMINA B1 (mín) 588 mg/kg VITAMINA B2 (mín) 1.200 mg/kg VITAMINA B6 (mín) 509 mg/kg VITAMINA B12 (mín) 3.000 mcg/kg NIACINA (mín) 6.000 mg/kg PANTOTEN.DE CÁLCIO (mín) 2.940 mg/kg COLINA (mín) 138 g/kg FERRO (mín) 20 g/kg MANGANES (mín) 10 g/kg ZINCO (mín) 26 g/kg COBRE (mín) 3.000 mg/kg IODO (mín) 310 mg/kg SELENIO (mín) 39,5 mg/kg ANTIOXIDANTE 50 g/kg BIOTINA (mín) 20 mg/kg ÁCIDO FÓLICO (mín) 95 mg/kg .

A composição química analisada das dietas está representada na tabela 2. As enzimas foram aplicadas em cobertura após a extrusão, juntamente com o palatabilizante.

TABELA 2 - COMPOSIÇÃO QUÍMICA ANALISADA DAS DIETAS EXPERIMENTAIS

%	DC	FT	SDF	EDF	CB	CE
UM	10,86	10,75	11,60	12,02	11,50	11,69
PB	26,50	25,8	27,1	26,7	26,5	26,5
EEHA	7,15	6,64	6,94	7,07	7,03	7,31
MM	5,38	5,51	5,64	5,52	5,48	5,72
FB	2,50	2,00	1,93	1,80	2,2	2,1
EB	4711	4755	4750	4769	4751	4734
Cálcio	0,86	0,85	0,90	0,87	0,87	0,90
Fósforo	0,36	0,40	0,44	0,44	0,46	0,44

UM: umidade, PB: proteína bruta, EEHA: extrato etéreo em hidrólise ácida, MM: matéria mineral, FB: fibra bruta, EB (Kcal/Kg): energia Bruta. DC: dieta controle vegetal (sem adição de aditivos enzimáticos); FT: dieta controle com inclusão de fitase (5.000 FTU/g); SDF: dieta controle com inclusão de fitase *superdosing* (10.000 FTU/g); EDF: dieta controle com inclusão de fitase *extradosing* (15.000 FTU/g); CB: dieta controle com

inclusão de carboidratos (50.000 u/g), e CE: dieta controle com inclusão de um *blend* enzimático (fitases + carboidratos).

2.1.2. Animais e instalações

O experimento foi conduzido utilizando 12 cães adultos da raça Beagle (seis machos e seis fêmeas) com peso de $11,3 \pm 1,07$ kg e idade de 2 anos $\pm 0,5$ anos. Todos os animais passaram por exame clínico e físico, foram vacinados, desverminados e alojados individualmente em baias de alvenaria (5 metros de comprimento x 2 metros de largura), com abrigo e solário.

2.1.3. Ensaio de digestibilidade

O experimento contou com três períodos de avaliações, sendo que cada período possuiu cinco dias de adaptação e cinco dias de coleta total das fezes, de acordo com as recomendações da AAFCO (2004). Os cães foram alimentados duas vezes ao dia (8 h 30 min e 16 h 30 min) em quantidade suficiente para atender as necessidades de energia metabolizável (NEM) de acordo com o NRC (2006). A água foi fornecida à vontade.

As fezes foram coletadas pelo menos duas vezes ao dia, acondicionadas em potes plásticos, pesadas, identificadas por período/animal e armazenadas em freezer (-14 °C). No final de cada período, foram descongeladas, homogeneizadas e secas em estufa de ventilação forçada à 55° C (320-SE, Fanem, São Paulo, Brasil), por 72 horas. As fezes secas e as dietas foram moídas com peneiras de crivos de 1 mm em moinho de martelos Willey (Arthur H. Thomas Co., Philadelphia, PA).

As dietas e fezes foram submetidas a análises químicas de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB, método 954.01) e extrato etéreo em hidrólise ácida (EEAH, método 954.02) segundo a AOAC (1995). A energia bruta foi determinada em bomba calorimétrica (Parr Instrument Co., Model 1261, Moline, IL, USA). Com base nos resultados laboratoriais obtidos foram calculados os coeficientes de, segundo a AAFCO (2004):

$$\text{CDA} = (\text{g nutriente ingerido} - \text{g nutriente excretado}) / \text{g nutriente ingerido}.$$

$$\text{EM (kcal. g}^{-1}\text{)} = \{\text{kcal. g}^{-1} \text{EB ingerida} - \text{kcal. g}^{-1} \text{EB excretada nas fezes} - [(\text{g PB ingerida} - \text{g PB excretada nas fezes}) \times 1,25 \text{ kcal. g}^{-1}]\} / \text{g ração ingerida}.$$

As características das fezes foram avaliadas pelo teor de matéria seca (MSf), escore

fecal, nitrogênio amoniacal, pH fecal, e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e ramificada (AGCR).

O pH fecal e a nitrogênio amoniacal foram analisadas em fezes coletadas no máximo 15 minutos após a defecação. O escore fecal foi avaliado sempre pelo mesmo pesquisador, atribuindo-se notas de 1 a 5, sendo: 1 = fezes pastosas até o 5 = fezes bem formadas, duras e secas, de acordo com CARCIOFI et al. (2009).

Para mensuração do pH fecal foi utilizado um pHmêtro digital (331, Politeste Instrumentos de Teste Ltda, São Paulo, SP, Brasil) utilizando 3,0 g de fezes frescas diluídas com 30 mL de água destilada. A concentração de amônia nas fezes foi determinada de acordo com Brito et al. (2010).

Para determinação dos AGCC e AGCR, as fezes dos animais foram coletadas frescas, no máximo 15 minutos após a defecação. Em um recipiente plástico devidamente identificado e com tampa, 10 g de amostra de fezes foram pesadas e misturadas com 30 mL de ácido fórmico 16%. Esta mistura foi homogeneizada e armazenada em geladeira a 4°C por um período de 3 a 5 dias. Após estas soluções foram centrifugadas a 5000 rotações por minuto em centrífuga (2K15, Sigma, Osterodeam Hans, Alemanha) por 15 minutos. Ao final da centrifugação o sobrenadante foi separado e submetido a nova centrifugação. Cada amostra passou por três centrifugações e ao final da última, parte do sobrenadante foi transferida para um eppendorff® devidamente identificado para posterior congelamento. Posteriormente, as amostras foram descongeladas e passaram por uma nova centrifugação a 14000 rotações por minuto por 15 minutos (Rotanta 460 Robotic, Hettich, Tuttlingen, Alemanha). Os AGCC e AGCR fecais foram analisados por cromatografia gasosa (SHIMADZU, modelo GC-2014, Quioto, Japão). Utilizou-se uma coluna de vidro (Agilent Technologies, HP INNO wax – 19091N, Santa Clara, EUA) de 30 m de comprimento e 0,32 mm de largura. O nitrogênio foi o gás transportador, com uma taxa de fluxo de 3,18 ml/min. As temperaturas de trabalho foram 200°C na injeção, 240°C na coluna (na velocidade de 20°C/min) e 250°C no detector de ionização de chama.

2.1.3 Cálculos e análise estatística

O experimento foi analisado segundo delineamento em blocos casualizados, sendo o período o fator de blocagem. O experimento foi composto por seis tratamentos repetidos em

três períodos com 12 cães em cada período (sendo 2 cães por tratamento), totalizando seis repetições por tratamento. Os dados foram previamente analisados quanto à normalidade pelo teste Shapiro-Wilk e homogeneidade, quando essas premissas foram atendidas os dados foram submetidos à análise de variância utilizando o procedimento GLM do pacote estatístico SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC). As médias obtidas foram comparadas pelo Teste de Tukey ($P < 0,05$). Caso os dados não apresentassem distribuição normal, estes foram analisados pelo teste Kruskal Wallis, à 5% de probabilidade. Resultados obtidos próximos a 1 foram considerados com uma tendência.

Experimento II

2.2.2. Animais, instalações e testes palatabilidade

Foram utilizados 16 cães adultos, da raça Beagle (oito machos e oito fêmeas) com peso de $11,3 \pm 1,07$ kg. Os cães foram alojados em baias de alvenaria com solário de 5 metros de comprimento x 2 metros de largura.

A palatabilidade foi determinada por meio da mensuração da razão da ingestão e primeira escolha entre as rações ofertadas aos cães e mensurada comparando-se as dietas em pares (GRIFFIN, 2003), resultando em dois testes: Dieta controle (DC) vs dieta com blend enzimático (CE) e dieta com fitase 5.000 FTU (FT) vs dieta com blend enzimático (CE).

Cada teste de palatabilidade foi composto por dois dias consecutivos, nos quais foram fornecidos, uma vez ao dia aos cães às 8:30 horas, dois potes contendo as duas diferentes dietas a serem comparadas, durante um período de 30 minutos. As quantidades fornecidas e as sobras foram quantificadas para se calcular a preferência alimentar e a primeira escolha, definida pelo registro do primeiro pote que o animal se aproximou durante a oferta simultânea dos alimentos. A posição dos potes era alternada no segundo dia de teste para se evitar preferências por posição de alimentação.

2.2.3. Análise estatística teste palatabilidade

O delineamento adotado foi inteiramente casualizado, totalizando 32 repetições por teste (16 cães x 2 dias). A razão de ingestão foi calculada com base no consumo (fornecido – sobras) relativo das dietas (A e B), sendo:

$$\text{Razão de ingestão (\%)} = [\text{g ingeridas da dieta A ou B} / \text{g totais consumidas (A + B)}] \times$$

100.

Previamente, os dados foram submetidos à análise de normalidade (Shapiro-Wilk) e homogeneidade, e se atendido a essas premissas, foram realizados os testes seguintes. Os dados de razão de ingestão foram analisados pelo teste t-Student e a primeira escolha pelo teste Qui-quadrado, ambos a 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS

A inclusão dos aditivos enzimáticos não afetou os CDMS, CDMO, CMPB e CDEB ($P > 0,05$, Tabela 3). Entretanto, com relação ao CDAEE, a dieta CB apresentou resultados inferiores em relação as dietas CE e SDF. Não houve diferença estatística entre as dietas DC, FT, SDF, EDF e CE ($P < 0,05$, Tabela 3).

TABELA 3 - COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE APARENTE (CDA, %) E ENERGIA METABOLIZÁVEL (EM KCal/Kg) DE CÃES ALIMENTADOS COM DIETA CONTROLE E COM INCLUSÃO DE ADITIVOS ENZIMÁTICOS.

Item (%)	DC	FT	SDF	EDF	CB	CE	EPM	P
CDAMS	89,50	89,14	90,80	89,54	89,72	90,62	0,62	0,361
CDAMO	91,12	90,89	92,45	91,42	91,41	92,12	0,53	0,295
CDAPB	91,35	91,45	92,93	91,87	91,85	92,58	0,53	0,278
CDAEB	90,84	90,58	91,96	90,57	91,10	91,82	0,57	0,350
CDAEE	88,84 ^{ab}	88,74 ^{ab}	90,68 ^a	89,69 ^{ab}	86,51 ^b	90,17 ^a	0,74	0,008
EM (Kcal/kg)	4303	4329	4390	4342	4352	4370	27,03	0,296

EPM: Erro padrão da média, P: probabilidade; MS: matéria seca, MO: matéria orgânica, PB: proteína bruta, EE: extrato etéreo em hidrólise ácida, EB: energia bruta, EM: energia metabolizável; DC: dieta controle vegetal (sem adição de aditivos enzimáticos); FT: dieta controle com inclusão de fitase (5.000 FTU/g); SDF: dieta controle com inclusão de fitase *superdosing* (10.000 FTU/g); EDF: dieta controle com inclusão de fitase *extradosing* (15.000 FTU/g); CB: dieta controle com inclusão de carboidrases (50.000 u/g), e CE: dieta controle com inclusão de um *blend* enzimático (fitases + carboidrases).

Os valores encontrados para a energia metabolizável não apresentaram diferença estatística entre os tratamentos ($P > 0,05$).

Não foram observadas diferenças estatísticas com relação aos resultados de AGCC, de AGCR, MSf, pH e NH₃, independente do tratamento utilizado nas dietas ($P > 0,05$, Tabela 4). Os resultados de ácido acético apresentaram uma tendência de crescimento para as dietas EDF e CB ($P = 1$, Tabela 4).

Em contrapartida, os valores de escore fecal das dietas DC diferiram em comparação com as das dietas EDF e CB ($P < 0,05$, Tabela 4).

TABELA 4 - CARACTERÍSTICAS FECAIS DE CÃES ALIMENTADOS COM DIETA CONTROLE E COM INCLUSÃO DE ADITIVOS ENZIMÁTICOS.

AGCC*	DC	FT	SDF	EDF	CB	CE	P
Acético	43,02	35,57	39,42	45,61	44,29	43,10	0,10
Propiônico	24,98	18,72	22,90	25,40	24,52	24,25	0,15

Butírico	5,30	5,28	5,73	5,96	4,80	5,25	0,51
Total AGCC	73,31	59,58	68,06	76,98	73,62	68,60	0,14
AGCR**							
Isobutírico	5,10	4,12	3,24	4,95	3,99	5,10	0,21
Isovalérico	1,69	1,46	1,47	1,45	1,09	1,52	0,58
Valérico	1,69	1,74	1,45	2,18	1,72	1,95	0,61
Total AGCR	8,76	7,25	6,11	8,58	6,59	8,27	0,22
pH	6,10	6,24	6,57	6,46	6,21	6,7	0,13
NH ₃	0,06	0,04	0,04	0,05	0,08	0,07	0,79
Escore fecal ¹	3,82 ^b	3,88 ^{ab}	3,95 ^{ab}	4,01 ^a	3,99 ^a	3,97 ^{ab}	0,02
Msf	35,63	33,54	34,37	34,75	34,10	33,50	0,57

Médias das características fecais e mediana do escore fecal. P: Probabilidade; * Ácidos graxos de cadeia curta ($\mu\text{mol/g}$ de fezes na matéria seca), **Ácidos graxos de cadeia ramificada ($\mu\text{mol/g}$ de fezes na matéria seca); NH₃: nitrogênio amoniacal (%); Msf: matéria seca fecal; ¹ Teste Kruskal Wallis, à 5% de probabilidade; escore fecal: 1 = fezes líquidas a 5 = fezes secas; DC: dieta controle vegetal (sem adição de aditivos enzimáticos); FT: dieta controle com inclusão de fitase (5.000 FTU/g); SDF: dieta controle com inclusão de fitase *superdosing* (10.000 FTU/g); EDF: dieta controle com inclusão de fitase *extradosing* (15.000 FTU/g); CB: dieta controle com inclusão de carboidrases (50.000 u/g), e CE: dieta controle com inclusão de um *blend* enzimático (fitases + carboidrases) .

Os animais não demonstraram preferências à primeira escolha por nenhuma das dietas fornecidas em ambos os testes ($P > 0,05$). No teste 1 (DC vs CE) não houve diferença entre a razão de ingestão dos animais, entretanto no teste 2 (FT vs CE) a razão de ingestão foi maior quando fornecido dietas CE ($P < 0,05$, Tabela 5).

TABELA 5- PRIMEIRA ESCOLHA E RAZÃO DA INGESTÃO DE CÃES ALIMENTADOS COM DIETA CONTROLE E DIETAS COM INCLUSÃO DE FITASE E CARBOIDRASES.

Teste 1 - DC vs CE	DC	CE	P
Primeira escolha	17	15	$>0,05$
Razão da ingestão	0,48	0,52	0,625
Teste 2 - FT vs CE	FT	CE	P
Primeira escolha	12	20	$>0,05$
Razão da ingestão	0,24	0,76	0,001

Primeira escolha pelo teste de Qui-quadrado ($P < 0,05$) e razão da ingestão pelo teste T-Student ($P < 0,05$). P: Probabilidade; DC: dieta controle (sem adição de aditivos enzimáticos); FT: dieta controle com inclusão de fitase (5.000 FTU/g) e CE: dieta controle com inclusão de um complexo enzimático (fitases + carboidrases).

4. DISCUSSÃO

O objetivo do estudo foi avaliar a digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes, a energia metabolizável (EM) das dietas, a palatabilidade da dieta e características fecais de cães de cães alimentados com dietas contendo aditivos enzimáticos.

A inclusão de aditivos enzimáticos na dieta poderia ser justificada, bem como a utilização de subprodutos com nutrientes mais indisponíveis, pelo poder de maximizar o potencial energético dos ingredientes e minimizar seus fatores antinutricionais (BRITO et al., 2008). Entretanto, este efeito benéfico pode ser prejudicado pela composição da dieta, assim como pelo perfil de substrato fornecido.

As dietas utilizadas no experimento, compostas principalmente por milho e farelo de soja, podem ser uma provável explicação para justificar a ausência de significância nos resultados de EM e digestibilidade obtidos no experimento. Em estudo realizado por Conte et al. (2002), foi observado que ingredientes como milho, que possuem baixas concentrações de PNA e baixa viscosidade, e o farelo de soja com sua maioria de PNA na forma de oligossacarídeos não amiláceos sofrem menor ação das enzimas. Outro estudo que corrobora com esta hipótese foi relatado por Silva et al. (2016) ao avaliar dietas com DDGS e diferentes inclusões de xilanases para cães, tendo como resultado uma melhoria no CDAPB das dietas com 18% de inclusão de DDGS. Demonstrando que as matérias primas utilizadas nas dietas podem influenciar diretamente na ação dos aditivos enzimáticos.

Os resultados que não apresentaram diferenças estatisticamente significativas (CDAMS, CDAMO, CDAPB e CDAEB), podem estar relacionados com a escolha dos ingredientes da dieta, não fornecendo substratos suficientes para a atuação das enzimas, ou até mesmo com os níveis de inclusão dos aditivos. Selle et al. (2003), em um dos seus experimentos utilizando xilanases, não observaram efeito das enzimas na digestibilidade de proteínas, justificando que este efeito pode ter sido ocasionado pela baixa inclusão de trigo (331 g/kg) na dieta. Este mesmo efeito poderia ser utilizado para explicar os resultados obtidos para CDAPB, visto que no presente estudo a inclusão do trigo foi ainda inferior (100 g/kg). O uso de xilanase com trigos, variando no nível e no conteúdo do PNA solúvel também pode ser um dos responsáveis por mascarar os efeitos do arabinoxilano nas dietas de monogástricos (BEDFORD, 2000). Outros fatores que exercem grande influência na ação das enzimas exógenas e devem ser considerados são: forma física da dieta, ingredientes

utilizados, processamento, tipo e quantidade de PNA (AMERAH et al., 2011, 2015). Estes critérios podem ter influenciado os resultados observados no presente estudo.

Mathloth et al. (2002) ao avaliarem a inclusão de xilanase e β -glucanase em dietas para aves de trigo e cevada, e Ravindran et al. (1999) em estudo também com aves, com a inclusão de xilanases em dietas a base de milho, sorgo e trigo, observaram um efeito positivo destas enzimas sobre a digestibilidade e absorção de nutrientes. O mesmo não foi observado neste estudo, podendo ser justificado pela composição e inclusão dos ingredientes de origem vegetal nas dietas.

Já Twomey et al. (2003a) ao avaliarem a inclusão de carboidrases em dietas para cães contendo sorgo e milho não observaram nenhum efeito da adição da mesma. Entretanto, os mesmos pesquisadores posteriormente avaliaram a inclusão de amilase, beta-glucanase e xylanase em dietas para cães contendo níveis crescentes de PNA solúveis e relataram o aumento da digestibilidade da gordura, matéria seca e energia, com melhoras significativas nas características fecais dos cães (TWOMEY et al., 2003b). Corroborando com o presente estudo em que observado nas dietas EDF e CB em comparação a DC, valores de escore fecal maiores ($P < 0,05$).

Não houve efeito das enzimas sobre os AGCC e AGCR ($P > 0,05$). A composição de PNA solúveis pode influenciar na formação dos AGCC, que em grandes quantidades favorece a rápida absorção dos AGCC no lúmen intestinal antes de chegar ao colón distal (VON ENGERLHARD, 1995; TWOMEY et al., 2003b).

COWIESON e O'NEILL (2013) observaram que a inclusão de xilanases proporcionou melhoria na microbiota intestinal de aves devido ao aumento da população de bifidobactérias, possibilitando maior disponibilização dos AGCC, que atuam como fonte energética para os colonócitos, e redução do pH. Corroborando com o descrito por Herschel et al., (1981) ao relatarem que devido a ação osmótica dos AGCC (acético e propiônico), contribuindo para a absorção de água no lúmen intestinal, ocorre o favorecimento de fezes mais consistentes.

Os resultados obtidos de escore fecal, em média escore 4, demonstra uma relação positiva ao uso destes aditivos, principalmente a dieta CE e EDF. Em estudo realizado por Twomey et al (2003b) os autores constataram melhorias significativas nas características fecais com a inclusão de carboidrases nas dietas para cães, devido a fragmentação dos PNA que reduzem sua capacidade de reter água. Os escores observados se encontram dentro do padrão ideal esperados para estes animais (FELIX et al., 2009).

Félix et al. (2012) relataram maior digestibilidade dos nutrientes e EM em dietas contendo farelo de soja suplementadas com enzimas (α -galactosidade, β -glucanase e xilanase) em cães. Entretanto, os resultados do uso de enzimas exógenas sobre a biodisponibilidade dos nutrientes em dietas extrusadas para cães ainda são inconsistentes, devido ao restrito número de trabalhos (TWOMEY et al., 2003; YAMKA et al., 2006).

Em relação a palatabilidade, a aceitação do alimento pelos animais representa um fator de extrema importância. Através apenas dos dados adquiridos pelo experimento não é possível atribuir a diferença da razão de ingestão por complexos enzimáticos a uma causa específica (teste 2, $P < 0.05$). Segundo Risolia (2017) a prévia alimentação dos animais com as dietas testadas, e qualquer interação que possa existir entre as enzimas utilizadas e a dieta formulada já seria capaz de alterar a palatabilidade das dietas dos animais. A palatabilidade pode ser influenciada por diversos fatores, entre eles: umidade, características organolépticas, odor, sabor, textura, comportamento que podem ter sido atenuados pela presença da enzima (FÉLIX et al., 2010).

5. CONCLUSÃO

A adição de aditivos enzimáticos não demonstra efeito na maioria dos coeficientes de digestibilidade e características fecais. A palatabilidade não foi afetada pela inclusão dos aditivos enzimáticos. A composição da dieta pode ter influenciado na expressão do efeito dos aditivos enzimáticos.

REFERÊNCIAS

- ADEOLA, O. AND COWIESON, A. J. Board-Invited Review: Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. **Journal of Animal Science**. V. 89, p. 3189–3218, 2011.
- AMERAH, A.M., GILBERT, C., SIMMINS, P.H., RAVINDRAN, V. Influence of feed processing on the efficacy of exogenous enzymes in broiler diets. **World's Poultry Science Journal**. V. 67, p. 29–46, 2011.
- ANAYA, A. H.; OROZCO-HERNÁNDEZ, J. R.; GÓMEZ, UJ. U.; MUÑOZ P.; JIMÉNEZ, S. Use of Phytase soybean-based diets and digestibility of adult German Shepherd. **Journal of Applied Science Research**. V. 4(12), p. 1624-1626, 2008.
- ASSOCIATION OF THE OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1995. Official Methods of Analysis, 16th ed. AOAC, Washington, DC, USA.
- ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS. Dog and cat nutrient profiles. Official Publications of the Association of American Feed Control Officials Incorporated. AAFCO, Oxford, IN, USA, 2004.
- BACH KNUDSEN, K. E. Fiber and non-starch polysaccharide content and variation in common crops used in broiler diets. **Poultry Science**. V. 93, p.1–14, 2014.
- BEDFORD, M. R. Exogenous enzymes in monogastric nutrition d their current value and future benefits. **Animal Feed Science and Technology**. V.86 (1e2), p.1-13, 2000.
- BEDFORD M. R., COWIESON A. J. Exogenous enzymes and their effects on intestinal microbiology. **Animal Feed Science and Technology**. V. 85, p. 173-176, 2012.
- BRITO, M. S.; DE OLIVEIRA, C. F. S.; SILVA, T. R. G.; RODRIGO BARBOSA DE LIMA, MORAIS, S. N.; SILVA, J. H. V. Polissacarídeos não amiláceos na nutrição de monogástricos – revisão. **Acta Veterinaria Brasilica**. V. 2, n. 4, p. 111-117, 2008.
- BRITO, C.B.M., FÉLIX, A.P., JESUS, R.M., FRANC, A, M.I., OLIVEIRA, S.G., KRABBE, E.L., MAIORKA, A. Digestibility and palatability of dog foods containing different moisture levels, and the inclusion of a mould inhibitor. **Animal Feed Science. Technology**. V. 159, p. 150–155, 2010.
- CARCIOFI, A.C., OLIVEIRA, L., VALÉRIO, A., BORGES, L.L., CARVALHO, F., BRUNETTO, M.A., VASCONCELLOS, R.S. Comparison of micronized whole soybeans to common protein sources in dry dog and cat diets. **Animal Feed Science. Technology**. V. 151, 251–260, 2009.
- CONTE, A., CONTE, J. TEIXEIRA, S. A., BERTECHINI, G. A., TADEU FILHO, E. MUNIZ, J. A. Efeito da fitase e xilanase sobre a energia metabolizável do farelo de arroz integral em frangos de corte. **Ciência e agrotecnologia**. V.26, n.6, p.1289-1296, 2002.

COWIESON, A. J., ADEOLA, O. Carbohydrases, protease, and phytase have an additive beneficial effect in nutritionally marginal diets for broiler chicks. **Poultry Science**. V. 84, p. 1860–1867, 2005.

COWIESON, A.J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M.R. Phytic acid and phytase: implications for protein utilization by poultry. **British Poultry Science**. V.85, p.878-885, 2006.

COWIESON A. J., WILCOCK P., BEDFORD M. R. Super-dosing effects of phytase in poultry and other monogastric. **World Poultry Science Journal**. V 67, p. 225-235, 2011.

COWIESON, A. J. and O'NEILL, H.V.M. Effects of exogenous xylanase on performance, nutrient digestibility and caecal thermal profiles of broilers given wheat-based diets. **British Poultry Science**. Vol. 54, n3, p. 346-354, 2013.

DERSJANT-LI, Y.; AWATI, A.; SCHULZE, H.; PARTRIDGE, G. Phytase in non-ruminant animal nutrition: a critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factor. **Journal of the Science of food and agriculture**, v. 95, p. 878-896, 2015.

FELIX, A. P., ZANATTA, C. P., BRITO, C. B. M., MURAKAMI, F. Y., FRANÇA, M. I., MAIORKA, A., FLEMMING, J. S. Suplementação mananoligossacarídeos (MOS), e uma mistura de aluminosilicatos na qualidade das fezes de cães adultos. **Archives of Veterinary Science**, v. 14, n.1, p. 31-35, 2009.

FÉLIX, A.P.; OLIVEIRA, S.G.; MAIORKA, A.; **Fatores que interferem no consumo de alimentos em cães e gatos**. Em: Vieira S.L.; 1º Ed.; Consumo e Preferência alimentar dos animais domésticos. PhytobioticsBrasil, Londrina, p. 162-199, 2010.

FÉLIX, A. P., CARVALHO, M. P., ALARÇA, L. G., BRITO, C.B.M., OLIVEIRA, S. G., MAIORKA, A. Effect of the inclusion of carbohydrases and different soybean meals in the diet on palatability, digestibility and faecal characteristics in dog. **Animal Feed Science and Technology**. V.174. p.182-189, 2012.

FORTES, C. M. L. S.; CARCIOFI, A. C.; SAKOMURA, N. K.; KAWAUCHI, I. M.; et al. Digestibility and metabolizable energy of some carbohydrate sources for dogs. **Animal Feed Science and Technology** v.156, p. 121–125, 2010.

FRANCESCH, M.; GERAERT, P. A. Enzyme complex containing carbohydrases and phytase improves growth performance and bone mineralization of broilers fed reduced nutrient corn-soybean-based diets. **Poultry Science** v.88, p.1915–1924, 2009.

GRIFFIN, R.W. Palatability testing: parameters and analysis that influence test conclusions. In: Kvamme, J.L., Phillips, T.D. (Eds.), **Petfood Technology**. Watt Publishing, Mt. Morris, p.187 -193, 2003.

HERSCHEL, D. A., ARGENZIO, R. A., SOUTHWORTH, M.; STEVENS, C. E. Absorption of volatile fatty acid, Na, and H₂O by the colon of the dog. **American Journal of Veterinary Research**. n.42, p.1118–1124, 1981.

MASEY O'NEILL HV, SMITH JA, BEDFORD MR. Multicarbohydrase enzymes for non-ruminants. **Asian Australian Journal Animal Science**. V. 27 (2), p. 290-301, 2014.

MATHLOUTHI N; MALLET S. S.; SAULINIER L; Effects of xylanase and beta-glucose addition on performance, nutrient digestibility and physic-chemical conditions in the small intestine contents and caecal microflora of broiler chickens fed a wheat and barley-based diet. **Animal Research**. V.51, p. 395-406. 2002.

NRC Nutrient Requirements of Dogs and Cats. National Academies Press, Washington, DC, USA, 2006.

OLEMPСКА-BEER, Z. S.; MERKER, R. I.; DITTO, M. D.; DINOVI, M. J. Food-processing enzymes from recombinant microorganisms - a review. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**. V.45, pg.144–158, 2006.

OLUKOSI, O.A., COWIESON, A. J. AND ADEOLA O., 2008. Energy utilization and growth performance of broilers receiving diets supplemented with enzymes containing carbohydrase or phytase activity individually or in combination. **British Journal of Nutrition**. V.99, p. 682–690,2008.

SAS - Statistical Analysis System: users guide. Cary, NC, 1996. 584p.

P. H. Selle, P.H., Ravindran, V. Ravindran, G., Pittolo, P. H. e Bryden, W. L. Influence of Phytase and Xylanase Supplementation on Growth Performance and Nutrient Utilization of Broilers Offered Wheat-based Diets. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**. V. 16 (3), P. 394-402, 2003.

RAVINDRAN V., CABAUG S., RAVINDRAN G., BRYDEN W.L. Influence of microbial phytase on apparent ileal amino acid digestibility of feedstuffs for broilers. **Poultry Science**. V. 78, 699–706, 1999.

RISOLIA, W. L. **Efeito da adição das enzimas xilanase e protease em dietas contendo grãos secos de destilaria contendo solúveis (DDGS) para cães**. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ciências veterinárias) – Universidade Federal do Paraná – UFPR, Paraná. 2017.

SAKOMURA, N. K., BARBOSA, N. A. A., DOURADO, L. R. B. Enzimas na Nutrição de Monogástricos. In: SAKOMURA, N. K., SILVA, J. H. V., COSTA, F. G. P., FERNANDES, J. B. K., HAUSCHILD, L. Nutrição de Não Ruminantes (1ªEd), 677p, 2014.

SCHRAMM, V. G., DURAU, J. F., BARRILLI, L. N. E., SORBARA, J. O. B., COWIESON, A. J., FÉLIX, A. P., MAIORKA, A. Interaction between xylanase and phytase on the digestibility of corn and a corn/soy diet for broiler chickens. **Poultry Science**. V. 96, Issue 5, p. 1204–1211, 2016.

SILVA, J. R., DOMINGUES, L. P., SABCHUK, T. T., MALINOSKI, F., FELIX, A. P., OLIVEIRA, S. G. Efeito da aplicação da enzima xilanase em dietas contendo resíduo seco de destilaria contendo solúveis (ddgs) na alimentação de cães. **XV Congresso CBNA PET**, Expo D. Pedro - Campinas, SP, 2016.

SLOMINSKI, B. A., J. GDALA, D. BOROS, L. D. CAMPBELL, W. GUENTER, AND O. JONES. 2000. **Variability in chemical and nutritive composition of Canadian wheat and the potential for its minimization by enzyme use.** In: Proceedings of the XXI World Poultry Congress, Montreal, Canada, 2000.

STROMPFOVÁ, V., LAUKOVÁ, A., GANCARCIKOVA, S. Effectivity of freeze-dried from of *Lactobacillus fermentum* AD1-CCM7421 in dogs. **Journal of Applied Microbiology and Biotechnology.** V. 57, p. 347-350, 2012.

TWOMEY, L.N.; PLUSKE, J.R.; ROWE, J.B.; CHOCT, M.; BROWN, W.; McCONNELL, M.F.; PETHICK, D.W. The replacement value of sorghum and maize with or without supplemental enzymes for rice in extruded dogs foods. **Animal Feed Science and Technology.** v.108, p.61-69a, 2013a.

TWOMEY, L.N.; PLUSKE, J.R.; ROWE, J.B.; CHOCT, M.; BROWN, W.; MCCONNELL, M.F.; PETHICK, D.W. The effects of increasing levels of soluble bon-starch polysaccharides and inclusion of feed enzymes in dog diets on fecal quality and digestibility. **Animal Feed Science and Technology.** v.108, p.71-82, 2013b.

VON ENGELHARD, W. **Absorption of short-chain fatty acids from the large intestine.** In: Cummings J, Rombeau J, Sakata T. Physiological and clinical aspects of short-chain fatty acids. Cambridge University Press, Cambridge, p 149-170, 1995.

YAMKA, R.M., et al. In vivo measurement of flatulence and nutrient digestibility in dogs fed poultry by-product meal , conventional soybean meal , and low-oligosaccha- ride low-phytate soybean meal. **American Journal of Veterinary Research,** v. 67, p. 88-94, 2006.

LISTA DE REFERÊNCIAS

- ABINPET. (2015). **Dados referentes ao mercado pet food em (2013)**. Disponível “<<http://abinpet.org.br/site/mercado/>>”. Acesso: 10/04/2017.
- ADEOLA, O. AND COWIESON, A. J. Board-Invited Review: Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. **Journal of Animal Science**. V. 89, p. 3189–3218, 2011.
- AMERAH, A.M., GILBERT, C., SIMMINS, P.H., RAVINDRAN, V. Influence of feed processing on the efficacy of exogenous enzymes in broiler diets. **World’s Poultry Science Journal**. V. 67, p. 29–46, 2011.
- AMERAH, A.M. Interactions between wheat characteristics and feed enzyme supplementation in broiler diets. **Animal Feed Science and Technology**. V. 199, p. 1–9, 2015.
- ANAYA, A. H.; OROZCO-HERNÁNDEZ, J. R.; GÓMEZ, UJ. U.; MUÑOZ P.; JIMÉNEZ, S. Use of Phytase soybean-based diets and digestibility of adult German Shepherd. **Journal of Applied Science Research**. V. 4(12), p. 1624-1626, 2008.
- ARAÚJO, M. D.; SILVA, J. H. V.; ARAÚJO, A. J.; TEIXEIRA, M. N. E.; JORDÃO FILHO, J.; RIBEIRO, G. M. Farelo de trigo na alimentação de poedeiras semipesadas na fase de recria. **Revista Brasileira de Zootecnia**. V. 37, n. 1, p. 67-72. 2008.
- ASSOCIATION OF THE OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1995. Official Methods of Analysis, 16th ed. AOAC, Washington, DC, USA.
- ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS. Dog and cat nutrient profiles. Official Publications of the Association of American Feed Control Officials Incorporated. AAFCO, Oxford, IN, USA, 2004.
- BACH KNUDSEN, K. E. Fiber and non-starch polysaccharide content and variation in common crops used in broiler diets. **Poultry Science**. V. 93, p.1–14, 2014.
- BARLETTA, A. **Introduction: Current Market and Expected Developments**. In: BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. Enzymes in Farm Animal Nutrition. 2.ed. Cap.1, p.1-11, 2011.
- BEDFORD, M. R. Exogenous enzymes in monogastric nutrition d their current value and future benefits. **Animal Feed Science and Technology**. V.86 (1e2), p.1-13, 2000.
- BEDFORD M. R., COWIESON A. J. Exogenous enzymes and their effects on intestinal microbiology. **Animal Feed Science and Technology**. V. 85, p. 173-176, 2012.
- BEG, Q.; KAPOOR, M.; MAHAJAN, L.; HOONDAL, G. S. Microbial xylanases and their industrial applications: a review. **Applied Microbiology biotechnology**. V.56, p. 326-338,

2001.

BELLAVER, C. Ingredientes de origem animal destinados à fabricação de rações. In: **SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL**. Campinas. Anais. Campinas, SP:CBNA, 2001. p.167-190, 2001.

BRITO, M. S.; DE OLIVEIRA, C. F. S.; SILVA, T. R. G.; RODRIGO BARBOSA DE LIMA, MORAIS, S. N.; SILVA, J. H. V. Polissacarídeos não amiláceos na nutrição de monogástricos – revisão. **Acta Veterinaria Brasilica**. V. 2, n. 4, p. 111-117, 2008.

BRITO, C.B.M., FÉLIX, A.P., JESUS, R.M., FRANC, A, M.I., OLIVEIRA, S.G., KRABBE, E.L., MAIORKA, A. Digestibility and palatability of dog foods containing different moisture levels, and the inclusion of a mould inhibitor. **Animal Feed Science. Technology**. V. 159, p. 150–155, 2010.

CAMPESTRINI, E.; SILVA, V.T. M.; APPELT, M.D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.2, n.6, p.254-267, 2005.

CAPRITA, R.; CAPRITA, A.; JULEAN, C. biochemical aspects of non-starch polysaccharides. **Animal Science and biotechnology**, Romenia. V. 43, n.1, p. 368-374, 2010.

CAPPELLI, S.; MANICA, E.; HASHIMOTO, J.H. Importância dos aditivos na alimentação de cães e gatos: Revisão. PUBVET – **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**. V.10, n.3, p.212-223, 2016.

CARCIOFI, A.C. Fontes de Proteínas e carboidratos para cães e gatos. **Revista Brasileira de Zootecnia**. V.37, p. 28-41, suplemento especial, 2008.

CARCIOFI, A.C., OLIVEIRA, L., VALÉRIO, A., BORGES, L.L., CARVALHO, F., BRUNETTO, M.A., VASCONCELLOS, R.S. Comparison of micronized whole soybeans to common protein sources in dry dog and cat diets. **Animal Feed Science. Technology**. V. 151, 251–260, 2009.

CASE, L.P; CAREY, D.P; HIRAKAWA, D.A. **Nutrição canina e felina -Manual para profissionais**. 2ª edição. Lisboa: Harcourt Brace, 1998. 424 p

CHOCT, M. Feed Non-Starch Polysaccharides: Chemical structures and nutritional significance. **Feed Milling International**. June issue, p. 13-26, 1997.

CHOCT, M., KOCHER, A., WATERS, D.L.E., PETTERSSON, D., ROSS, G. A comparison of three xylanases on the nutritive value of two wheats for broiler chickens. **British Journal of Nutrition**. V.92, p. 53- 61, 2004.

CONTE, A., CONTE, J. TEIXEIRA, S. A., BERTECHINI, G. A., TADEU FILHO, E. MUNIZ, J. A. Efeito da fitase e xilanase sobre a energia metabolizável do farelo de arroz integral em frangos de corte. **Ciência e agrotecnologia**. V.26, n.6, p.1289-1296, 2002.

CONTE, A.J., et al. Efeito da Fitase e Xilanase sobre o Desempenho e as características

Ósseas de Frangos de Corte Alimentados com Dietas Contendo Farelo de Arroz. In: **Revista Brasileira de Zootecnia**. V.32, n.5, p.1147-1156, 2003.

COLLINS, T.; GERDAY, C.; FELLER, G. Xylanases, xylanase families and extremophilic xylanases. **FEMS microbiology reviews**. V.29, n.1, p.3-23, 2005.

COUGHLAN, M.P. e HAZLEWOOD, G.P. B-1-4 Dxyran-degrading enzyme systems: biochemistry molecular biology and application. **Applied Biochemistry and Biotechnology Journal**. V.17, pg. 259-289, 1993.

COWIESON, A. J., ACAMOVIC, T., BEDFORD, M. R. The effects of phytase and phytic acid on the loss of endogenous amino acids and minerals from broiler chickens. **British Poultry Science**. V. 45, p. 101-108, 2004.

COWIESON, A. J., ADEOLA, O. Carbohydrases, protease, and phytase have an additive beneficial effect in nutritionally marginal diets for broiler chicks. **Poultry. Science**. V. 84, p. 1860–1867, 2005.

COWIESON, A.J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M.R. Phytic acid and phytase: implications for protein utilization by poultry. **British Poultry Science**. V.85, p.878-885, 2006.

COWIESON A. J, BEDFORD M. R. The effect of phytase and carbohydrase on ileal amino acid digestibility in monogastric diets: complimentary mode of action? **World Poultry Science Journal**. V. 65 (4), p. 609-624, 2009.

COWIESON A. J., WILCOCK P., BEDFORD M. R. Super-dosing effects of phytase in poultry and other monogastric. **World Poultry Science Journal**. V 67, p. 225-235, 2011.

COWIESON, A. J. and O'NEILL, H.V.M. Effects of exogenous xylanase on performance, nutrient digestibility and caecal thermal profiles of broilers given wheat-based diets. **British Poultry Science**. Vol. 54, n3, p. 346-354, 2013.

DERSJANT-LI, Y.; AWATI, A.; SCHULZE, H.; PARTRIDGE, G. Phytase in non-ruminant animal nutrition: a critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factor. **Journal of the Science of food and agriculture**, v. 95, p. 878-896, 2015.

DOS SANTOS T. T., SRINONGKOTE S., BEDFORD M. R., WALK C. L. Effects of high phytase inclusion rates on performance of broilers fed diets not severely limited in available phosphorus. **Asian Australasian Journal Animal Science**. V. 26 (2), p. :227-232, 2013.

DUTRA JR, W.M., NETO J.B.R., MOREIRA J.C.S., BIASUS I.O. & GIER M. Substituição parcial do milho por resíduo da pré-limpeza do arroz com a adição de enzimas em rações para frangos de corte. ii - características de carcaça. **Revista da Faculdade de Medicina veterinária e Zootecnia - Uruguaiana**. V. 7/8, p. 170-178, 2000/2001.

FELIX, A. P., ZANATTA, C. P., BRITO, C. B. M., MURAKAMI, F. Y., FRANÇA, M. I., MAIORKA, A., FLEMMING, J. S. Suplementação mananoligossacarídeos (MOS), e uma

mistura de aluminossilicatos na qualidade das fezes de cães adultos. **Archives of Veterinary Science**, v. 14, n.1, p. 31-35, 2009.

FÉLIX, A.P.; OLIVEIRA, S.G.; MAIORKA, A.; **Fatores que interferem no consumo de alimentos em cães e gatos**. Em: Vieira S.L.; 1º Ed.; Consumo e Preferência alimentar dos animais domésticos. PhytobioticsBrasil, Londrina, p. 162-199, 2010.

FÉLIX, A. P., CARVALHO, M. P., ALARÇA, L. G., BRITO, C.B.M., OLIVEIRA, S. G., MAIORKA, A. Effect of the inclusion of carbohydrases and different soybean meals in the diet on palatability, digestibility and faecal characteristics in dog. **Animal Feed Science and Technology**. V.174. p.182-189, 2012.

FISCHER, G.; MAIER, J.C.; RUTZ, F.; BERMUDEZ, V.L. Desempenho de Frangos de Corte Alimentados com Dietas à Base de Milho e Farelo de Soja, com ou sem Adição de Enzimas. **Revista Brasileira de Zootecnia**. V.31, n.1, p.402-410, 2002.

FORTES, C. M. L. S.; CARCIOFI, A. C.; SAKOMURA, N. K.; KAWAUCHI, I. M.; et al. Digestibility and metabolizable energy of some carbohydrate sources for dogs. **Animal Feed Science and Technology** v.156, p. 121–125, 2010.

FRANCESCH, M.; GERAERT, P. A. Enzyme complex containing carbohydrases and phytase improves growth performance and bone mineralization of broilers fed reduced nutrient corn-soybean-based diets. **Poultry Science** v.88, p.1915–1924, 2009.

GRIFFIN, R.W. Palatability testing: parameters and analysis that influence test conclusions. In: Kvamme, J.L., Phillips, T.D. (Eds.), **Petfood Technology**. Watt Publishing, Mt. Morris, p.187 -193, 2003.

HERSCHEL, D. A., ARGENZIO, R. A., SOUTHWORTH, M.; STEVENS, C. E. Absorption of volatile fatty acid, Na, and H₂O by the colon of the dog. **American Journal of Veterinary Research**. n.42, p.1118–1124, 1981.

HUMER, E., SCHWARZ, C. E SCHEDLE, K. Phytate in pig and poultry nutrition. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. V. 99, pg. 605–625, 2015.

JOYCE, C., DENEAU, A., PETERSON, K., OCKENDEN, I., RABOY, V. AND LOTT, J. N. A. The concentrations and distributions of phytic acid phosphorus and other mineral nutrients in wildtype and low phytic acid Js-12-LPA wheat (*Triticum aestivum*) grain parts. **Canadian Journal of Botany**. V.83, p.1599-1607, 2005.

LABOURE, A. M.; GAGNON, J.; LESCURE, A. M. Purification and characterization of a phytase (myo-inositolhexakisphosphate phosphohydrolase) accumulated in maize (*Zea mays*) seedlings during germination. **Biochemical Journal**. V. 295, p. 413–419, 1993.

LEE S. A., BEDFORD M. R. Inositol e an effective growth promotor? **World Poultry Science Journal**. V. 72 (4), p.743-760, 2016.

LELIS, G.R.; ALBINO, L.F.T.; SILVA, C.R.; ROSTAGNO, H.S.; GOMES, P.C. BORSATTO,

C.G. Suplementação dietética de fitase sobre metabolismo de nutrientes de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**. V.39, n.8, p.1768-1773, 2010.

LESLIE, M.A., MORAN, E. T., BEDFORD, R. M. The effect of phytase and glucanase on the ileal digestible energy of corn and soybean meal fed to broilers. **Poultry Science**. V. 86, p.2350-2357, 2007.

LIMA G.J.M.M. & VIOLA E.S. Ingredientes energéticos: trigo e tritcale na alimentação animal. **In: Simpósio Sobre Ingredientes Na Alimentação Animal**. Campinas CBNA p.33-61, 2001.

LIMA, A.C.F., MACARI, M., PIZAURO JUNIOR, JM, MALHEIROS, E.B. Pancreatic enzymatic activity of broiler fed with diets containing enzyme or probiotic. **Brazilian Journal of Poultry Science**. V.4, n.3, p.187-193, 2002.

LIN, L., OCKENDEN, I., LOTT, J. N. A. The concentrations and distributions of phytic acid phosphorus and other mineral nutrients in wild-type and low phytic acid 1-1 (lpa1-1) corn (*Zea mays L.*) grain parts. **Canadian Journal of Botany**. V.83, p.131-141, 2005.

LOWE, J. A. Effective use of new and novel concepts in pet food design. In: Proc. Alltech's Fifth Annual Symposium. **Biotechnology in the Feed Industry**. Alltech's Technical Publications, Nicholasville, KY. P209- 221, 1989

MAENZ DD, **Enzymatic and other characteristics of phytases as they relate to their use in animal feeds**, in Enzymes in Farm Animal Nutrition, ed. by Bedford MR and Partridge GG. CABI, Wallingford, UK, pp. 61–84 2001.

MANOBHAVAN M., ELANGO VAN A. V., SRIDHAR M., SHET D., AJITH S., PAL D. T., et al. Effect of super dosing of phytase on growth performance, ileal digestibility and bone characteristics in broilers fed corn-soya-based diets. **Journal of animal physiology and animal nutrition**. V. 100 (1), p. 1-7, 2016.

MAPA – **MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. REGULAMENTO TÉCNICO SOBRE ADITIVOS PARA PRODUTOS DESTINADOS À ALIMENTAÇÃO ANIMAL**. Instrução normativa nº13/2004, 2004.

MARSMANN G.J., GRUPPEN H., VAN DER POEL, F.A. et al. 1997. The effect of thermal processing and enzyme treatments of soybean meal on growth performance, ileal nutrient digestibility, and chyme characteristics in broiler chicks. **Poultry Science**. V. 76, p. 864-872.

MASEY O'NEILL, H.V., LIU N., WANG J. P., DIALLO A., HILL S. Effect of xylanase on performance and apparent metabolizable energy in starter broilers fed diets containing one maize variety harvested in different regions of China. **Asian Australian Journal Animal Science**. V. 25, p.515-523, 2012.

MASEY O'NEILL HV, SMITH JA, BEDFORD MR. Multicarbohydrase enzymes for non-ruminants. **Asian Australian Journal Animal Science**. V. 27 (2), p. 290-301, 2014.

MATHLOUTHI N; MALLET S. S.; SAULINIER L; Effects of xylanase and beta-glucose addition on performance, nutrient digestibility and physico-chemical conditions in the small intestine contents and caecal microflora of broiler chickens fed a wheat and barley-based diet. **Animal Research**. V.51, p. 395-406. 2002.

MOURINHO, F.L. **Avaliação nutricional da casca de soja com ou sem adição de complexo enzimático para leitões na fase de creche**. 2006. 42f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2006.

NRC Nutrient Requirements of Dogs and Cats. National Academies Press, Washington, DC, USA, 2006.

OLEMPSKA-BEER, Z. S.; MERKER, R. I.; DITTO, M. D.; DINOVI, M. J. Food-processing enzymes from recombinant microorganisms - a review. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**. V.45, pg.144–158, 2006.

OLUKOSI, O.A., COWIESON, A. J. AND ADEOLA O., 2008. Energy utilization and growth performance of broilers receiving diets supplemented with enzymes containing carbohydrase or phytase activity individually or in combination. **British Journal of Nutrition**. V.99, p. 682–690, 2008.

SAS - Statistical Analysis System: users guide. Cary, NC, 1996. 584p.

P. H. Selle, P.H., Ravindran, V. Ravindran, G., Pittolo, P. H. e Bryden, W. L. Influence of Phytase and Xylanase Supplementation on Growth Performance and Nutrient Utilization of Broilers Offered Wheat-based Diets. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**. V. 16 (3), P. 394-402, 2003.

PALOHEIMO, M., PIIRONEN, J., and VEHEMAANPERA, J. **Xylanases and celulasas as feed additives**. In: BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. 2.ed. Cap.2, p.12-54. 2011.

PARKKONEN T., TERVILA-WILO A., HOPEAKOSKI-NURMINEN M., MORGAN A., POUTANEN K., AUTIO K., Changes in wheat microstructure following in vitro digestion. **Acta Agriculture Scandinavica**. Sect B V.47, p. 43–47, 1997.

PENZ JÚNIOR A.M. Enzimas em rações para aves e suínos. In: **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia- Botucatu - SP**. V.35, x, p.65-178, 1998.

SUBRAMANIYAN, S. & PREMA, P. Biotechnology of Microbial Xylanases: Enzymology, Molecular Biology, and Application. **Critical Reviews in Biotechnology**. V. 22 (1), p. 33-64, 2002.

RAVINDRAN V., CABAUGH S., RAVINDRAN G., BRYDEN W.L. Influence of microbial phytase on apparent ileal amino acid digestibility of feedstuffs for broilers. **Poultry Science**. V. 78, 699–706, 1999.

RISOLIA, W. L. **Efeito da adição das enzimas xilanase e protease em dietas contendo grãos secos de destilaria contendo solúveis (DDGS) para cães.** 76 f. Dissertação (Mestrado em Ciências veterinárias) – Universidade Federal do Paraná – UFPR, Paraná. 2017.

RODRIGUEZ E., PORRES J. M., HAN Y., LEI X. G. Different sensitivity of recombinant *Aspergillus niger* phytase (r-PhyA) and *Escherichia coli* pH 2.5 aid phosphatase (r-AppA) to trypsin and pepsin in vitro. **Archives of Biochemistry and Biophysics.** V. 365 (2), 262–267, 1999.

SAID, N. W. Extrusion of alternative feed ingredients: An environmental and nutritional solution. **Journal of applied poultry research.** V. 5, p. 395-407, 1996.

SAKOMURA, N. K., BARBOSA, N. A. A., DOURADO, L. R. B. Enzimas na Nutrição de Monogástricos. In: SAKOMURA, N. K., SILVA, J. H. V., COSTA, F. G. P., FERNANDES, J. B. K., HAUSCHILD, L. Nutrição de Não Ruminantes (1ªEd), 677p, 2014.

SCHRAMM, V. G., DURAU, J. F., BARRILLI, L. N. E., SORBARA, J. O. B., COWIESON, A. J., FÉLIX, A. P., MAIORKA, A. Interaction between xylanase and phytase on the digestibility of corn and a corn/soy diet for broiler chickens. **Poultry Science.** V. 96, Issue 5, p. 1204–1211, 2016.

SHANG M.J. O uso de enzimas VEGPRO em dietas para frangos em crescimento. In: **6ª Ronda Latinoamericana de Biotecnologia da Alltech, Caribe, Anais.** p. 71-77, 1996.

SILVA, J. R., DOMINGUES, L. P., SABCHUK, T. T., MALINOSKI, F., FELIX, A. P., OLIVEIRA, S. G. Efeito da aplicação da enzima xilanase em dietas contendo resíduo seco de destilaria contendo solúveis (ddgs) na alimentação de cães. **XV Congresso CBNA PET, Expo D. Pedro - Campinas, SP, 2016.**

SLOMINSKI, B. A., J. GDALA, D. BOROS, L. D. CAMPBELL, W. GUENTER, AND O. JONES. 2000. **Variability in chemical and nutritive composition of Canadian wheat and the potential for its minimization by enzyme use.** In: Proceedings of the XXI World Poultry Congress, Montreal, Canada, 2000.

STEIFF, E.L.; BAUER, J.E. Nutritional adequacy of diets formulated for companion animals. **Journal of the American Veterinary Medical Association Schaumburg.** V. 219, n.5, p. 601-604, 2001.

STROMPFOVÁ, V., LAUKOVÁ, A., GANCARCIKOVA, S. Effectivity of freeze-dried from of *Lactobacillus fermentum* AD1-CCM7421 in dogs. **Journal of Applied Microbiology and Biotechnology.** V. 57, p. 347-350, 2012.

SUNVOLD, G.D., FAHEY, G.C., MERCHEN, N.R., et al. Dietary fiber for dogs. IV. In vitro fermentation of selected fiber sources by dog fecal inoculum and In Vivo digestion and metabolism of fiber-supplemented diets. **Journal of Animal Science,** v.73, n.6, p.1099-1109, 1995.

TAYLOR JRN. Non-starch polysaccharides, protein and starch: from function and feed e highlights on sorghum. **Proceedings, Australian Poultry Science Symposium**. V.17, p. 9-16, 2005.

TORRES, D. M. **Valor nutricional de farelos de arroz suplementados com fitase, determinado por diferentes metodologias com aves**. 172 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras – UFLA, Lavras. 2003.

TWOMEY, L.N.; PLUSKE, J.R.; ROWE, J.B.; CHOCT, M.; BROWN, W.; McCONNELL, M.F.; PETHICK, D.W. The replacement value of sorghum and maize with or without supplemental enzymes for rice in extruded dogs foods. **Animal Feed Science and Technology**. v.108, p.61-69a, 2013a.

TWOMEY, L.N.; PLUSKE, J.R.; ROWE, J.B.; CHOCT, M.; BROWN, W.; MCCONNELL, M.F.; PETHICK, D.W. The effects of increasing levels of soluble bon-starch polysaccharides and inclusion of feed enzymes in dog diets on fecal quality and digestibility. **Animal Feed Science and Technology**. v.108, p.71-82, 2013b.

VON ENGELHARD, W. **Absorption of short-chain fatty acids from the large intestine**. In: Cummings J, Rombeau J, Sakata T. Physiological and clinical aspects of short-chain fatty acids. Cambridge University Press, Cambridge, p 149-170, 1995.

YAMKA, R.M., et al. In vivo measurement of flatulence and nutrient digestibility in dogs fed poultry by-product meal , conventional soybean meal , and low-oligosaccha- ride low-phytate soybean meal. **American Journal of Veterinary Research**, v. 67, p. 88-94, 2006.

YU S., COWIESON A., GILBERT C., PLUMSTEAD P., DALSGAARD S. Interactions of phytate and myo-inositol phosphate esters (IP1-5) including IP5 isomers with dietary protein and iron and inhibition of pepsin. **Journal of Animal Science**. V. 90, p. 1824–1832, 2012.

WALK C. L., BEDFORD M. R., SANTOS T. T., PAIVA D., BRADLEY J. R., WLADECKI H., et al. Extra phosphoric effects of superdoses of a novel microbial phytase. **Poultry Science**. V. 92, p. 719-25, 2013.

WILLIAMS, P.E.V.; GERAERT, P.A.; UZU, G.; ANNISON, G. **Factors affecting non-starch polysaccharide digestibility in poultry**. CIHEAM- Options mediterraneennes [online], p.125-134. Disponível em <http://ressources.ciheam.org/om/pdf/c26/97605979.pdf>. Acesso em: 07 Jan 2019.

WOYENGO TA AND NYACHOTI CM, Review: Anti-nutritional effects of phytic acid in diets for pigs and poultry: current knowledge and directions for future research. **Canadian Journal of Animal Science**. V. 93, pg. 9–21, 2013.

WYSS M, BRUGGER R, KRONENBERGER A, RÉMY R, FIMBEL R, OESTERHELT G ET AL., Biochemical characterization of fungal phytases (myo-inositol hexakisphosphate phosphohydrolase): catalytic properties. **Applied and Environmental Microbiology**. V. 65, p.367–373, 1999.